

Aus der Poliklinik für Zahnerhaltung und Parodontologie
der Ludwig-Maximilians-Universität München
Direktor: Prof. Dr. med. dent. Reinhard Hickel

Validierung des International Caries Detection and
Assessment Systems (ICDAS) mit Hilfe verschiedener
histologischer Methoden

Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Zahnheilkunde
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität München

vorgelegt von
Michael Johannes Seitz

aus
Augsburg

2011

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Priv. Doz. Dr. med. dent. Jan Kühnisch

Mitberichterstatter: Prof. Dr. Dr. Heinz Kniha

Prof. Dr. Andrea Wichelhaus

Dekan: Prof. Dr. med. Dr. h.c. M. Reiser FACR, FRCR

Tag der mündlichen Prüfung: 26.07.2011

Inhaltsverzeichnis

1.	Einleitung.....	1
1.1.	Ätiologie und Histopathologie der Karies	1
1.2.	Methodik und Potenzial verfügbarer Verfahren zur histologischen Erfassung des kariösen Prozesses	6
1.2.1.	Vorbereitung des Probenmaterials zur histologischen Untersuchung ..	6
1.2.2.	Visualisierung des kariösen Prozesses	7
1.2.3.	Quantifizierung der Kariesextension	10
1.2.4.	Übersicht zu bislang genutzten histologischen Arbeitstechniken zur Validierung der Okklusalkaries	13
1.3.	Klinische Kariesdiagnostik	19
1.3.1.	Epidemiologie und Problematik der Okklusalkaries	19
1.3.2.	Visuelle Untersuchung nach den ICDAS-Kriterien	20
2.	Zielstellung	24
3.	Material und Methoden	25
3.1.	Auswahl und Vorbereitung des Probenmaterials	25
3.2.	Visuelle Kariesdiagnostik	25
3.2.1.	Methode von ICDAS	25
3.2.2.	Festlegung der Konsensdiagnose zur Validierung von ICDAS	26
3.3.	Validierung der Kariesdiagnostikmethode	27
3.3.1.	Mikrocomputertomografie	27
3.3.2.	Konventionelles Vorgehen	28
3.4.	Auffinden der identischen Stellen im Mikrocomputertomogramm und im histologischen Schnittpräparat	32
3.5.	Registrierung der Kariesextension	34
3.5.1.	Kariesextension in der Microcomputertomografie	35
3.5.2.	Kariesextension in der Lichtmikroskopie	36
3.6.	Statistische Auswertung	37
4.	Ergebnisse.....	41
4.1.	Probenmaterial.....	41
4.2.	Vergleich der unterschiedlichen Validierungsmethoden.....	42
4.2.1.	Mikrocomputertomografische Untersuchung.....	42
4.2.2.	Lichtmikroskopische Untersuchung.....	43
4.2.3.	Vergleich der Ergebnisse der Mikrocomputertomografie und des Lichtmikroskops	45
4.3.	Einfluss der Quantifizierung der Kariesextension auf die Validität der Diagnostikmethode	47

4.3.1.	Semiquantitative Methodik	47
4.3.2.	Quantitative Methodik	50
4.3.3.	Validierung der ICDAS-Kriterien.....	50
4.4.	Auftreten markanter histologischer Merkmale	54
4.4.1.	Erfassung unterschiedlicher Demineralisationsgrade mit der Mikrocomputertomografie	54
4.4.2.	Erfassung unterschiedlicher Demineralisationsgrade mit der konventionellen histologischen Methode.....	56
5.	Diskussion	59
5.1.	Studiendesign	59
5.2.	Vergleich der genutzten Validierungsansätze	61
5.3.	Validierung der Kariesdiagnostik mit ICDAS	63
5.4.	Histologische Merkmale und Kariesaktivität	68
6.	Zusammenfassung	70
7.	Literaturverzeichnis	73
8.	Danksagung	85

1. Einleitung

1.1. Ätiologie und Histopathologie der Karies

Miller formulierte 1889 seine „chemisch-parasitäre“ Kariestheorie, in der er erstmalig Mikroorganismen für die Entstehung der „Zahncaries“ verantwortlich machte. Er unterteilte den Verlauf der Karies in zwei Stadien: Den bakteriellen Säureangriff, der zur Demineralisation der Zahnhartsubstanz führt, sowie die anschließende Auflösung derselbigen. 1897 wurde das Konzept der bakteriellen Oberflächenschichten durch Williams entwickelt und seit Black [1914] werden diese Schichten als Zahnplaque bezeichnet. Im Jahr 1962 beschrieb Keyes die Karies als einen multifaktoriellen Vorgang, der durch drei Faktoren bestimmt wird. Dabei handelt es sich um die kariogenen Mikroorganismen in der Plaque, die Verfügbarkeit von kariogenem Substrat (niedermolekulare Kohlenhydrate) und um die Zahnhartsubstanz. König fügte 1968 mit der Einwirkzeit den vierten Faktor hinzu. Daneben gibt es zahlreiche sekundäre Faktoren, welche eine Kariesentstehung begünstigen. Hierzu zählen Zahnfehlstellungen, ein reduzierter Speichelfluss, aber auch sozioökonomische und verhaltensbezogene Komponenten [König 1971].

Nach der heutigen Auffassung handelt es sich bei der Karies um eine Infektionskrankheit, deren Fortschreiten wie folgt zusammengefasst werden kann: Für die Kariesinitiation an der Schmelzoberfläche sind primär säureproduzierende Mikroorganismen, vor allem (Non-)Mutans-Streptokokken verantwortlich. Deren Substrat sind niedermolekulare Kohlenhydrate, die aus der aufgenommenen Nahrung bezogen und zu Lactat verstoffwechselt werden. Dadurch kommt es zu einem Abfall des pH-Wertes an der Zahnoberfläche, woraus eine Demineralisation des Schmelzes resultiert [Takahashi und Nyvad 2008]. Dieser Demineralisationsprozess kann jedoch unterbrochen werden, indem die Substratzufuhr gestoppt wird. Zudem ist der Speichel in der Lage, Säuren abzupuffern und diese damit zu neutralisieren. In der Folge kommt es zu einem pH-Anstieg. Nun ist die Plaque mit Calcium- und Phosphationen übersättigt, was eine umgekehrte Ionenbewegung zurück in den Schmelz zur Folge hat. Unter dieser Bedingung kommt es zur Remineralisation, wobei die Anwesenheit von Fluoridionen diesen Vorgang unterstützt. Der Prozess zwischen De- und Remineralisation läuft mehrfach täglich ab. Erst wenn die Plaque über lange Zeit am Zahn haftet und keine Neutralisation durch den Speichel mehr stattfinden

kann, überwiegt die Demineralisation. Hier wird von einem „Netto-Mineralverlust“ gesprochen. Klinisch resultiert dieser zunächst in einer beginnenden Läsion. Im fortgeschrittenen Stadium kann es zur Kavitation kommen [Leverett et al. 1993, Featherstone et al. 2000, Pitts und Stamm 2004].

Das erste klinisch erkennbare Stadium der Demineralisation ist die *Schmelzkaries*. Klinisch und lichtmikroskopisch ist hier noch keine Kavitation erkennbar. Mit Hilfe des Elektronenmikroskops hingegen lassen sich bereits Mikroporen nachweisen [Yanagisawa und Miake 2003]. Mit dem weiteren Voranschreiten des kariösen Prozesses kommt es zu charakteristischen Veränderungen, welche sich auch histologisch nachweisen lassen. Eine Schmelzkaries kann diesbezüglich in vier Zonen eingeteilt werden, die sich von der Oberfläche in Richtung Schmelz-Dentin-Grenze wie folgt darstellen:

- *Oberflächenschicht*: Hier liegt ein Mineralverlust von 1-10% vor. Das Porenvolumen ist kleiner als 5%. Die Oberflächenschicht entsteht als Remineralisationsprodukt während des kariösen Angriffs.
- *Körper der Läsion*: Hierbei handelt es sich um die Zone des größten Mineralverlustes. Das Porenvolumen steigt auf 5-25% an.
- *Dunkle Zone*: Sie erscheint im Schmelzschliff dunkelbraun und das Porenvolumen beträgt 2-4%.
- *Transluzente Zone*: Diese grenzt sich nur bei etwa der Hälfte aller Läsionen gegenüber dem gesunden Schmelz ab. Das Porenvolumen beträgt 1%, etwa zehnmal so viel wie das des gesunden Schmelzes [Schröder 1997].

Während im Zahnschmelz die Demineralisation allein zur Desintegration der Schmelzprismen führt, ist dieser Prozess im Dentin zuerst durch die Demineralisation und danach durch die Denaturierung des Kollagens geprägt [Silverstone und Hicks 1985]. Mit der Zunahme des Porenvolumens im Schmelz können Säuren und Mikroorganismen die Schmelz-Dentin-Grenze penetrieren und in das Dentin vordringen. Bei einem weiteren Voranschreiten des kariösen Prozesses im Dentin kommt es zunächst zu einer säureinduzierten Entmineralisierung der das Kollagen bedeckenden anorganischen Bestandteile. Nach der Demineralisation findet die enzymatische Schädigung der organischen Matrix durch Kollagenasen und andere Proteasen statt [Tjäderhane et al. 1998, Hannas et al. 2007]. Klinische und histologische Anzeichen einer ersten

Dentindemineralisation können nach dem Erreichen der Schmelz-Dentin-Grenze in Form bräunlicher Verfärbungen des Dentins festgestellt werden [Bjørndal und Thylstrup 1995, Bjørndal 2008]. Nach dem Auftreten einer Mikrokavität breitet sich die Läsion unterminierend entlang der Schmelz-Dentin-Grenze aus [Ekstrand et al. 1998a]. Sobald die Läsion die Schmelz-Dentin-Grenze und das äußere Manteldentin durchbrochen hat, kommt es zur Eröffnung von Dentintubuli. Daraus resultiert eine Aktivitätserhöhung der Odontoblasten. Dies zeigt sich durch eine verstärkte Flüssigkeitsproduktion, durch die Toxine nach peripher transportiert werden [Pashley 1992, Hahn und Liewehr 2007]. Außerdem kommt es zu einer forcierten Mineralisation, um die Dentintubuli zu verschließen. Das Ziel dieser Maßnahmen ist die Abschottung gegenüber der kariösen Läsion, um so ein weiteres Vordringen von Säuren und kariogenen Bakterien zu verhindern [Bjørndal 2008, Zavgorodniy et al. 2008]. Diese vermehrte Mineraleinlagerung lässt sich im Lichtmikroskop als transparente Zone erkennen [Massler 1967, Johnson 1969, Stanley et al. 1983]. Ogawa et al. [1983] zählen diesen Bereich zu der inneren kariösen Schicht, welche vital nicht infiziert und remineralisierbar ist. Die Zone der Transparenz kann bei einer akuten, schnell voranschreitenden Karies nur schwach oder gar nicht ausgebildet sein [Schroeder 1997, Bjørndal 2008].

Nach Schroeder können bis zu sieben typische Schichten bei der *Dentinkaries* beschrieben werden, welche jedoch nicht immer alle nachweisbar sind. Diese reihen sich von der Zahnoberfläche in Richtung der Pulpa folgendermaßen aneinander [Schroeder 1997, Hellwig 2007]:

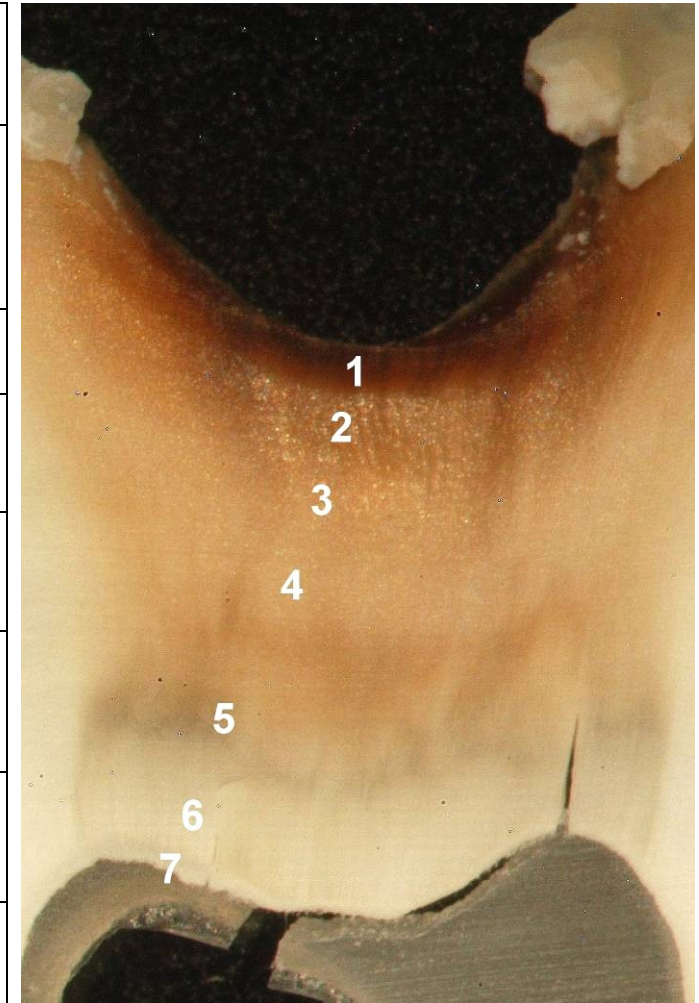
1. *Zone der Nekrose*: Dieser Bereich entspricht dem vollständig zerstörten Dentin. Dieses ist durch die Demineralisation und die anschließende Denaturierung erweicht bzw. verflüssigt. Hier finden sich vitale und abgestorbene Mikroorganismen sowie deren Enzyme, vor allem Esterasen und Peptidasen, die eine fettige Degeneration bewirken.
2. *Zone der Penetration*: Die Bakterien, vornehmlich grampositive Mikroorganismen wie z.B. Lactobazillen, dringen in die Dentintubuli ein. Die Dentinstruktur erscheint hier noch weitgehend intakt.
3. *Zone der Demineralisation*: Es handelt sich hierbei um eine Entkalkung des Dentins, welche durch die von Mikroorganismen gebildeten Säuren hervorgerufen wird. Diese Zone ist radioluzent und bei Beseitigung der kariogenen Noxen kann eine Remineralisation beobachtet werden.

4. „*Dead tracts*“: Hier sind keine Odontoblastenfortsätze vorhanden und damit kann eine Kommunikation mit der Pulpa nicht mehr erfolgen. Die Permeabilität ist gegenüber normalem Dentin erhöht.
5. *Sklerotisches Dentin (Zone der Transparenz)*: Tritt nur an vitalen Zähnen auf und entsteht durch die Obliteration der Dentintubuli. Es stellt eine natürliche Abwehrbarriere dar. Bei der akuten Karies ist dieser Bereich nur sehr dünn oder auch gar nicht ausgebildet.
6. *Gesundes Dentin*: Dieses kann bei einer fortgeschrittenen Läsion nicht mehr oder nur noch geringfügig vorhanden sein.
7. *Tertiärdentin*: Es wird durch die Abwehrreaktion der Pulpa hervorgerufen.

In der Tabelle 1 sind neben der histologischen Einteilung von Silverstone und Hicks [1985] und Schroeder [1997] auch die von Furrer [1922] und die von Linderer [1837] beschriebenen histologischen Zonen aufgeführt. Während Linderer [1837] lediglich die Verfärbungen in Schmelz und Dentin erkannte, gelang Furrer [1922] eine deutlich detailreichere Beschreibung des histologischen Erscheinungsbildes kariöser Läsionen.

Tabelle 1: Histologische Beschreibung der Dentinkaries

Linderer 1837	Furrer 1922	Silverstone und Hicks [1985], Schroeder [1997]
a. Bräunliche Stelle in der Zahnschubstanz	I. Pilzreiche Zone	1. Zone der Nekrose
	II. Pilzarme Zone	
	III. Zone der Pionierpilze	2. Zone der Penetration
b. Heller Fleck in Zahnschubstanz	IV. Zone der Trübung	3. Zone der Demineralisation
		4. „dead tracts“
	V. Zone der Transparenz	5. Sklerotisches Dentin/Zone der Transparenz
c. Zahnschubstanz	VI. Zone der vitalen Reaktion	6. gesundes Dentin
		7. Tertiärdentin



1.2. Methodik und Potenzial verfügbarer Verfahren zur histologischen Erfassung des kariösen Prozesses

1.2.1. Vorbereitung des Probenmaterials zur histologischen Untersuchung

Die histologische Erfassung des kariösen Prozesses kann konventionell (destruktiv) oder mit neueren Methoden auch non-destruktiv erfolgen.

Alle *destruktiven* Verfahren haben gemeinsam, dass es bei der Herstellung der Zahnhartsubstanzprobe unweigerlich zur Zerstörung derselbigen kommt und diese für nachfolgende Untersuchungen nicht mehr zur Verfügung steht. Außerdem ist diese Art der Probenherstellung relativ aufwändig. So sind zum Teil zahlreiche aufeinanderfolgende Schritte notwendig, wodurch sich Fehler und Ungenauigkeiten bei der Probenherstellung einschleichen können [Wenzel et al. 1994]. Als vergleichsweise einfaches Verfahren der destruktiven Probenherstellung ist die Hemisektion (HEM) zu nennen, bei der der Zahn an der zu untersuchenden Stelle durchtrennt wird und die dadurch entstehenden Flächen visualisiert werden. Problematisch ist hier, dass der Schnitt in der Regel nicht sicher durch die tiefste Stelle der Läsion geführt werden kann, welche in der Regel vorab nur zu vermuten ist. Dieses Vorgehen ist daher mit Unsicherheiten belastet [Wenzel et al. 1994, Jablonski-Momeni et al. 2008]. Das am häufigsten verwendete Verfahren zur histologischen Untersuchung von Zähnen ist das Anfertigen von histologischen Schnitten. Im Gegensatz zur Hemisektion wird die gesamte Probe untersucht. Allerdings ist bei diesem Vorgehen als Hauptproblem der Verlust eines Teils der zu untersuchenden Zahnhartsubstanz durch die Stärke des Sägeblattes (ca. 200-300µm) zu nennen [Downer 1975]. Außerdem werden für einige Validierungsverfahren sehr dünne Zahnschliffe (ca. 100µm) benötigt, was die Gefahr birgt, dass entweder die zu untersuchende Stelle weggeschliffen wird oder die Probe zerbricht und somit unwiederbringlich verloren ist [Ricketts et al. 1998, Jablonski-Momeni et al. 2009]. Bei allen oben genannten Aufbereitungsverfahren besteht zudem die Schwierigkeit, im histologischen Bild auch die tatsächlich zuvor untersuchte Stelle der Kaufläche zu beurteilen [Ricketts et al. 1998]. Außerdem ist diese Anwendung nur bei extrahierten Zähnen möglich [Hintze und Wenzel 2002].

Bei dem einzigen heute verfügbaren *non-destruktiven* Verfahren, der Mikrocomputertomografie (µCT), ergeben sich demgegenüber einige Vorteile, da eine umfangreiche Aufbereitung des Probenmaterials entfällt und so die Gefahr des Verlustes von einzelnen oder mehreren Schnitten nicht besteht. Es handelt

sich um ein Verfahren, welches einfach durchzuführen ist und es zudem ermöglicht, Schnittebenen des zu untersuchenden Objekts in jeder beliebigen Achse des Raumes zu generieren. Die Zahnhartsubstanzproben müssen nicht zerstört werden und stehen somit für weitere Untersuchungen zur Verfügung, wodurch sie auch wiederholt analysiert werden können [Huang et al. 2007]. Die im μ CT gewonnenen Datensätze können archiviert und auf etwaige zukünftige Fragestellungen hin geprüft werden. Es ist lediglich darauf zu achten, dass das Probenmaterial während des Messvorgangs feucht gehalten wird [Schwass et al. 2009]. Im Vergleich zur destruktiven Probenherstellung, bei der es durch die Sägeblattstärke unweigerlich zu einem Informationsverlust zwischen den Schnitten kommt, kann hier das gesamte Präparat verlustfrei dargestellt [Wong et al. 2006] und somit der Punkt mit der am weitesten vorangeschrittenen Kariesextension identifiziert werden. Die entscheidenden Vorteile sind somit, dass keine Ungenauigkeiten beim Vorbereiten der Proben entstehen und kein Probenmaterial durch Sägen oder Schleifen verloren geht. Als Nachteil sind die immens hohen Gerätekosten zu nennen.

1.2.2. Visualisierung des kariösen Prozesses

Für die histologische Visualisierung kariöser Läsionen nach der *destruktiven* Probenaufbereitung gibt es verschiedene Möglichkeiten. Die einfachste ist die makroskopische Betrachtung und/oder die fotografische Dokumentation (Foto) einer Zahnhälfte, eines Zahnschnittes oder Zahnschliffes [Ricketts et al. 1995a, Alwas-Danowska et al. 2002]. Der Aufwand hierfür ist relativ gering und es werden keine teuren Hilfsmittel benötigt.

Das am weitesten verbreitete Verfahren zur Visualisierung kariöser Läsionen ist das Licht- (LM) bzw. Stereomikroskop (SM) (Tab.1). Bei einem Stereomikroskop wird das Objekt in der Regel von der Seite beleuchtet und das reflektierte Licht durch zwei vollständig getrennte Strahlengänge geleitet. Das Objekt wird dabei aus zwei Richtungen mit einem Unterschied von 14° bis 16° betrachtet, wodurch ein räumlicher Eindruck vermittelt wird. Nach einer vergleichenden Untersuchung mikroradiografischer, röntgenologischer, visueller und stereomikroskopischer Validierungsverfahren wurden für Letzteres sowohl auf dem Schmelz- als auch auf

dem Dentinkariesniveau valide Ergebnisse bei einem vergleichsweise geringen Arbeitsaufwand festgestellt [Hintze et al. 1995].

Beim Polarisationsmikroskop handelt es sich um ein Durchlichtmikroskop, bei dem die Eigenschaft der Doppelbrechung des Lichtes genutzt wird. Zwischen der Lichtquelle und dem Objekt befindet sich ein Polarisationsfilter, der nur Licht in einer bestimmten Schwingungsebene passieren lässt. Vor dem Objektiv befindet sich ein weiterer Polarisationsfilter, der gegenüber dem vorherigen um 90° gedreht ist, wodurch auch das restliche Licht gefiltert wird. Wird nun eine doppelbrechende (die Schwingungsebene des Lichtes ändernde) Probe auf den Objektisch gelegt, so kommt es zu einer Änderung der Polarisationssebene des Lichtes und es werden Strukturen sichtbar. Ein Problem bei dieser Methode besteht darin, dass die zu untersuchenden Präparate sehr dünn (etwa 100µm) geschliffen werden müssen und somit ein hoher Arbeitsaufwand entsteht [Wefel 1995].

Des Weiteren gibt es die Möglichkeit eine kariöse Läsion im Fluoreszenzlicht darzustellen. Unter Verwendung energiereichen Lichtes kommt es zu einer Fluoreszenzanregung. Durch die Verwendung entsprechender optischer Filter wird das Licht des Anregungsspektrums herausgefiltert und nur das Fluoreszenzlicht zur Analyse weitergeleitet. Das so entstandene Bild kann anschließend dokumentiert und ausgewertet werden.

Bei der konfokalen Laser Scanning Mikroskopie (CLSM) dient als Lichtquelle ein Laser. Im Gegensatz zur konventionellen Mikroskopie, bei der das Objektfeld als Ganzes ausgeleuchtet wird, wird nur ein Punkt des Objektbereiches untersucht und das Präparat Punkt für Punkt abgetastet. Deshalb kommt es zu weniger Streulicht wodurch im resultierenden Bild der Kontrast und die Schärfe erhöht werden. Die Probenanalyse stützt sich auf die unterschiedliche Streuung von auftreffendem Laserlicht sowie der Autofluoreszenz des kariösen Dentins. Ein Vorteil der CLSM ist, dass die Proben nicht getrocknet werden müssen und deshalb die Gefahr von Trocknungsartefakten minimiert werden kann [Carvalho et al 2008].

Das Visualisierungsverfahren der transversalen Mikroradiografie (MR) wurde von Angmar et al. [1963] entwickelt. Dabei müssen von der Zahnhartsubstanz zunächst Schliffe mit einem Durchmesser von etwa 100µm hergestellt werden. Die Proben werden dann einer Röntgenstrahlung ausgesetzt, wodurch das mikroradiografische Bild auf einem Film entsteht. Durch eine gleichzeitig auf dem

Film abgebildete Aluminiumtreppe kann der Mineralgehalt in Abhängigkeit zur Läsionstiefe bestimmt werden. Da die Proben sehr dünn geschliffen werden müssen, ist die Methode aufwändig und es besteht die Gefahr, dass die filigranen Proben brechen und damit verloren gehen [de Josselin de Jong et al. 1987, Thomas et al. 2006].

Das Validierungsverfahren der Mikrocomputertomografie (μ CT) leitet sich von der 1972 von Hounsfield und Cormack entwickelten Computertomografie ab. Im Unterschied zu der konventionellen Technik bewegt sich bei der μ CT die Probe, wohingegen bei der Computertomografie die Strahlenquelle und der Sensor um das Objekt (Patient) rotieren. Aufgrund dieser technischen Änderung konnte die Auflösung deutlich gesteigert werden, da so störende Vibrationen vermieden werden. Als weiterer Unterschied ist zu nennen, dass beim μ CT eine räumliche Auflösung von bis zu $30\mu\text{m}$ erreicht werden kann, welche mit konventionellen Geräten unerreichbar ist [Dowker et al. 2003]. Der Aufbau eines μ CTs besteht im Wesentlichen aus der Strahlenquelle, dem Probenhalter und einem Strahlendetektor. Außerdem wird ein PC zur Gerätesteuerung und Bildrekonstruktion benötigt. Das μ CT hat sich sowohl bei Knochenuntersuchungen [Postnov et al. 2003, Chappard et al. 2008, Kazakia et al. 2008] als auch bei der Untersuchung von Mineralisationsunterschieden der Zahnhartsubstanz [Dowker et al. 2003, Wong et al. 2006, Huang et al. 2007, Schwass et al. 2009] bewährt.

In der Literatur finden sich einige Untersuchungen, welche zur Beschreibung der Mikroanatomie des Endodonts herangezogen wurden [Mannocci et al. 2005, Lee et al. 2006, Gekelman et al. 2009, Moore et al. 2009]. Des Weiteren wurde vor allem die diagnostische Güte von Röntgenbildern mit diesem Verfahren überprüft [Koob et al. 2004, Young et al. 2009]. In ihrer Studie von 2010 untersuchten Mitropoulos et al. mit Hilfe des μ CTs kariöse Läsionen des Approximalbereichs. Taylor et al. [2010] haben erste Versuche unternommen um die Ausdehnung einer kariösen Läsion automatisch mit Hilfe eines Algorithmus am PC zu bestimmen. Allerdings konnte bislang keine Veröffentlichung identifiziert werden, in der das μ CT als Validierungsmethode im Bereich der Okklusalkariesdiagnostik Anwendung gefunden hat.

1.2.3. Quantifizierung der Kariesextension

Zur Registrierung der Kariesextension wurden verschiedene Verfahren beschrieben. Wie die Tabelle 2 dokumentiert, gibt es eine Vielzahl von Autoren, die zum Teil sehr unterschiedliche Kriterien zur Beschreibung der Ausdehnung von kariösen Läsionen vorgeschlagen haben.

Tabelle 2: Vorschläge zur semiquantitativen Klassifikation der histologischen Kariesausdehnung:

Einteilungskriterien nach:	Gesund	Schmelzkaries		Dentinkaries	
Marthaler [1966], Lussi et al. [1999]	D0	D1	D2	D3	D4
Downer [1975]	H0	H2		H3	H4
Kay et al. [1988], Alwas-Danowska et al. [2002] ⁵ , Verdonschot et al. [1993], Lussi [1993]	1			2	
Lussi [1991]	0	1	2	3	
Nytun et al. [1992], Lazarchik et al. [1995], Gray und Paterson [1997], El-Housseiny und Jamjoum [2001], Costa et al. [2002], Fung et al. [2004], de Paula et al. [2009]	0	1		2	
Wenzel und Fejerskov [1992], Espelid et al [1994], Rodrigues et al. [2009]	0	1		2	3
Wenzel et al. [1992]	1			2	3
Tveit et al. [1994] ¹	0	1	2/3	4/5/6	7
Ricketts et al. [1995a]	0	1		2(3 ²)	
Ekstrand et al. [1997]	0	1	2	3	4
Ferreira-Zandoná et al. [1998b] ³ , Ando et al. [2000]	0	1			
Tonioli et al. [2002]	0/1	2		3	
Grossman et al. [2002] ⁴	0	1/3	2/4	5	6
Cortes et al. [2003]	0	1(2 ⁶)		3	
Swenson und Hennessey [2009]	0	1 ⁷			

¹Berücksichtigung ob die Läsion hart oder weich ist/ ²die Pulpa ist mitbetroffen/ ³Die Fissur wird in verschiedene Level eingeteilt/ ⁴Einteilung nach Läsionsverfärbung(1+2 weiß, 2+4 verfärbt)/ ⁵Messung der Läsionstiefe in mm und Läsionsfläche in mm²/ ⁶Demineralisation an der Schmelzdentingrenze/ ⁷Bei Kavitation oder wenn die Schmelzdentingrenze erreicht ist

Das erste *semiquantitative* Verfahren zur Kariesklassifikation wurde von Marthaler [1966] beschrieben. Dieser hat vor etwa vier Jahrzehnten einen Index zur Beurteilung der Kariesausdehnung vorgestellt, welcher sich aus heutiger Sicht weltweit etabliert hat. Er beschreibt den kariösen Prozess mit insgesamt fünf Stadien. Bei dem Wert D0 sind keinerlei Anzeichen einer Karies zu erkennen und der Zahn ist als gesund zu klassifizieren. Bei D1 ist ein kariöser Prozess auf die äußere Schmelzhälfte begrenzt und bei D2 ist die kariöse Veränderung in die innere Schmelzhälfte fortgeschritten, geht in ihrer Ausdehnung aber nicht über die Schmelz-Dentin-Grenze hinaus. Bei D3 ist die äußere Dentinhälfte betroffen. Bei D4 wird die innere Dentinhälfte erreicht. Diese Einteilung ist ein weltweit akzeptierter Standard und wurde in einer Vielzahl wissenschaftlicher Untersuchungen eingesetzt.

Eine jüngere Methode wurde von Ekstrand et al. [1997] vorgestellt. Bei dieser Einteilung klassifizieren die Verfasser die gesunden Zahnproben (Grad 0) und Schmelzläsionen der äußeren Schmelzhälfte (Grad 1) in Übereinstimmung zu dem System von Marthaler [1966]. Im Unterschied zu den vorhergehenden Ansätzen werden bei Ekstrand et al. [1997] Läsionen, die in der inneren Schmelzhälfte und im äußeren Dentindrittel liegen, zusammengefasst (Grad 2). Als weitere Kriterien werden Dentinläsionen im mittleren (Grad 3) und im inneren Dentindrittel (Grad 4) unterteilt. Da die Kriterien von Marthaler [1966] im Vergleich zu denen von Ekstrand [1997] Unterschiede aufweisen, können die verschiedenen Verfahren nicht direkt gegenübergestellt werden. Dies beeinflusst die Vergleichbarkeit von Studien, da für die histologische Validierung unterschiedliche Bewertungskriterien verwendet wurden.

Als erstes Verfahren zur *quantitativen* Messung der Kariesprogression hat Kühnisch [2010] den Caries-Extension-Index (CE-Index) vorgestellt. Im Gegensatz zu den oben beschriebenen Verfahren wird hier die Ausdehnung der Läsion quantitativ gemessen. Der CE-Index wird wie folgt errechnet: Zahnschnitte, die keine Anzeichen einer Demineralisation vorweisen, erhalten den Basiswert 0. Läsionen, die sich auf den Schmelz begrenzen, erhalten den Wert 0,x/y während Dentinläsionen den Wert 1,x/y zugeteilt bekommen. Die beiden Nachkommastellen entsprechen dabei dem Quotienten (in%) aus der Läsionstiefe (x) und der Schmelz- bzw. Dentindicke (y). Die Läsionstiefe (x) wird als Strecke zwischen der Schmelzoberfläche bzw. Schmelz-Dentin-Grenze und dem tiefsten

Punkt der pulpawärts gerichteten Kariesausdehnung festgelegt (Abb. 1 und 2). Im Anschluss wird der Quotient aus diesem ermittelten Messwert und der Schmelz- bzw. Dentindicke gebildet. Hat eine kariöse Läsion die Pulpakammer erreicht, so bekommt diese den Wert 2 zugeordnet. Der CE-Index liegt also immer zwischen 0 (gesund) und 2 (Pulpenkavum erreicht). Unter Verweis auf die Berechnung des CE-Index handelt es sich nicht um einen absoluten, sondern um einen zusammengesetzten Messwert. Ein Vorteil dieses Systems ist, dass durch die metrische Beurteilung die Genauigkeit des Referenzstandards erhöht wird, da ein quantitatives Maß anstelle eines semiquantitativen Vorgehens zur Anwendung kommt.

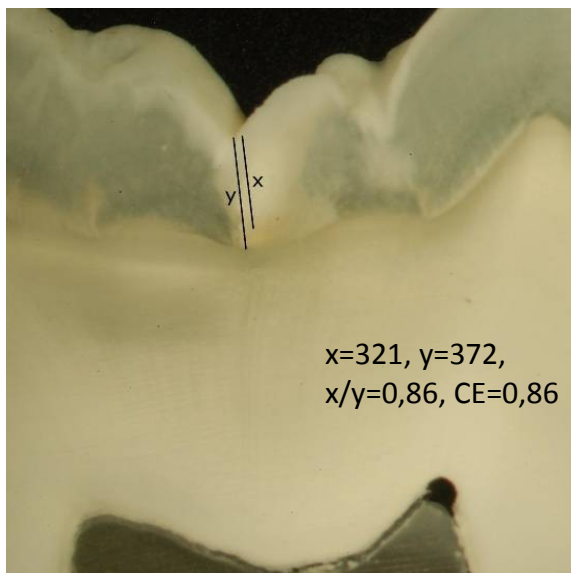


Abbildung 1: CE-Index einer Schmelzkaries

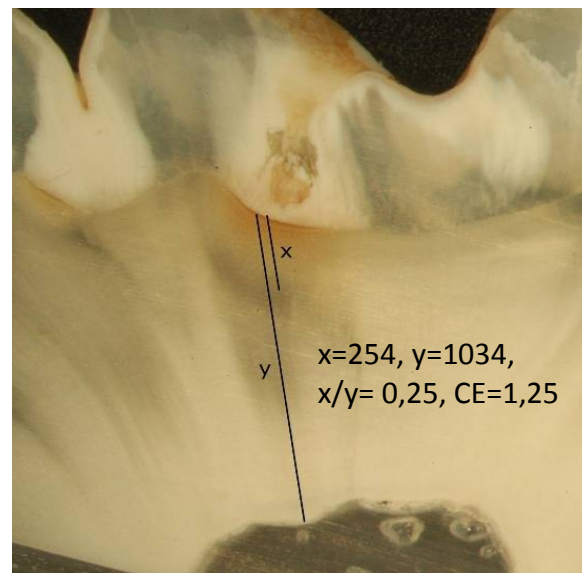


Abbildung 2: CE-Index einer Dentinkaries

Es kann somit für jeden Diagnostikwert oder jede Diagnostikkategorie ein Durchschnittswert des CE-Indexes einschließlich Standardabweichung, Minimalwert und Maximalwert berechnet werden. Ebenso können therapierrelevante Entscheidungen anhand dieser Werte abgeleitet werden. Zudem ist der CE-Index zu allen etablierten semiquantitativen Bewertungskriterien kompatibel (Tab. 3).

Tabelle 3: Vergleich des CE-Indexes mit den Kriterien nach Marthaler [1966] und Ekstrand et al. [1997]

Marthaler [1966]	CE-Index	Ekstrand et al. [1997]	CE-Index
D0 – Keine Anzeichen einer Karies	0	Score 0 – Keine Anzeichen einer Karies	0
D1 – Karies ist auf die äußere Schmelzhälfte begrenzt	0.01-0.50	Score 1 – Karies ist auf die äußere Schmelzhälfte begrenzt	0.0-0.50
D2 – Karies in der inneren Schmelzhälfte	0.51-1.00	Score 2 – Karies in der inneren Schmelzhälfte und im äußeren Dentindrittel	0.5-1.33
D3 – Karies ist auf äußere Dentinhälfte begrenzt	1.01-1.50	Score 3 – Karies im mittleren Dentindrittel	1.34-1.66
D4 – Karies erreicht die innere Dentinhälfte	>1.50-2.00	Score 4 – Karies erreicht das innere Dentindrittel	>1.67-2.00

1.2.4. Übersicht zu bislang genutzten histologischen Arbeitstechniken zur Validierung der Okklusalkaries

Alle Verfahren bzw. Methoden zur Kariesdetektion und -diagnostik bedürfen einer Validierung, bevor sie im klinischen Alltag umgesetzt werden können [Pitts 2004a]. Die Validierung setzt dabei die Gegenüberstellung des diagnostischen Testresultats und eines Referenzergebnisses voraus. Während die Durchführung des diagnostischen Tests als einzige Variable betrachtet wird und der Referenzstandard bislang als fixe, unumstößliche Größe bewertet worden ist, muss diese Sichtweise mit Blick auf die Tabelle 4 relativiert werden. Nach der systematischen Sichtung der Literatur und der Analyse der jeweils gewählten Methodik wurde offensichtlich, dass methodisch relevante Schritte der Probenaufbereitung, Visualisierung und Quantifizierung des kariösen Prozesses sehr unterschiedlich und keinesfalls standardisiert und einheitlich durchgeführt wurden. Schon mit Blick auf die Methodik aller vorhandenen Untersuchungen wurde deutlich, dass die Bestimmung des Referenzstandards eine überaus große Heterogenität aufweist. Zudem ist anzuführen, dass dieser Aspekt bislang nur durch wenige Autoren thematisiert worden ist [Wenzel et al. 1994, ten Cate et al.

2000, Pitts und Stamm 2004, Kühnisch et al. 2006]. Hier ist außerdem anzumerken, dass die Wahl des sogenannten Gold-Standards einen Einfluss auf das Ergebnis des diagnostischen Tests haben kann [Hintze und Wenzel 2003].

Alle Studien in der Tabelle 4 haben gemeinsam, dass der Erfolg des jeweils untersuchten, kariesdiagnostischen Verfahrens durch eine anschließende histologische Aufbereitung und Untersuchung des Probenmaterials überprüft wurde. Am häufigsten wurden zur Validierung zunächst Schnitte der Proben angefertigt, bei welchen dann unter Zuhilfenahme eines Stereomikroskops die Ausdehnung der Karies zu bestimmen war. Auch die Hemisektion wurde oft zur Probenaufbereitung verwendet. Relativ selten kam eine Färbung zur Bestimmung der Kariesausdehnung an den zu untersuchenden Präparaten zur Anwendung [Schneidermann et al. 1997, Lussi et al. 1999 Angnes et al. 2005, Rodrigues et al. 2008, Diniz et al. 2009a und 2009b]. Beim visuellen Darstellen einer kariösen Veränderung wurde, wie bereits oben erwähnt, das Stereomikroskop vom Großteil der Autoren favorisiert, gefolgt vom Lichtmikroskop, dem Anfertigen einer einfachen Fotografie, der Mikroradiografie und der konfokalen Laser Scanning Mikroskopie.

Zur Einteilung der Tiefe einer Läsion legten einige Autoren ihre eigenen Indizes fest. Die Vielzahl dieser Indizes verwendet als Kriterium für eine kariöse Veränderung die Verfärbung des Dentins. Tveit et al [1994] haben bei ihrer Einteilung neben der Verfärbung des Dentins auch untersucht, ob eine Erweichung vorliegt. Am häufigsten wurden die Kriterien nach Marthaler [1966] zur Beschreibung der Kariesextension in den verschiedenen Untersuchungen angewandt und seit 1997 fanden auch die von Lussi et al. definierten Kriterien immer wieder Verwendung. Die Kriterien nach Ekstrand et al. [1997] kamen in aktuellen Studien bevorzugt zum Einsatz.

Als weiteres Problem ist ein teilweise unvollständiges Untersuchungsprotokoll in einzelnen Studien zu nennen. So wurde zum Teil nicht angegeben, wie die histologische Aufbereitung des Probenmaterials ablief oder welche Kriterien für die Beschreibung der Kariesextension Anwendung fanden. Auch wird meist nur unzureichend beschrieben, welche Merkmale bei der histologischen Untersuchung als eindeutiges Zeichen für eine kariöse Veränderung galten. Bereits 1994 haben Wenzel et al. darauf hingewiesen, dass die jeweilige Validierungsmethode, aber auch der Untersucher, das Ergebnis einer diagnostischen Untersuchung

beeinflussen können und deshalb eine möglichst detaillierte Beschreibung der Aufbereitungstechnik und des Auswertungsvorganges erfolgen sollte.

Tabelle 4: Systematischer Literaturüberblick zu Validierungsverfahren für verschiedene Methoden der Okklusalkariesdiagnostik

Studie	Kariesdiagnostik						Histologische Validierung der Kariesdiagnostikverfahren								
	VI	Rö	Foti	LF	QLF	ERM	Probenaufbereitung				Visualisierung				Quantifizierung der Kariesextension
							HEM	Schnitte	Schliff	Färbung	Foto	LM	SM	MR	
Kay et al. [1988]	X							X							Kay et al. [1988]
Wenzel et al. [1990]	X	X					X				X				Marthaler [1966]
Lussi [1991]	X							3				X			Lussi [1991]
Wenzel et al. [1991]		X						9-15					X		Wenzel et al. [1991]
Nytun et al. [1992]	X	X						X					X		Nytun et al. [1992]
Wenzel und Fejerskov [1992]	X	X						X					X		Wenzel und Fejerskov [1992]
Wenzel et al. [1992]	X	X	X					X					X		Wenzel et al. [1992]
Verdonschot et al. [1993]	X	X				X		X					X		Verdonschot et al. [1993]
Ketley und Holt [1993]	X	X						X							Downer [1975]
Lussi [1993]	X	X						X				X			Lussi [1993]
Espelid et al [1994]		X							X						Espelid [1994]
Wenzel et al. [1994]	X	X						9-15					X		Wenzel und Fejerskov [1992]
Tveit et al. [1994]	X								X		X ¹				Tveit et al. [1994]
Lazarchik et al. [1995]		X													Lazarchik et al. [1995]
Ricketts et al. [1995a]	X	X					X				X				Ricketts et al. [1995a]
Schneidermann et al. [1997]	X	X	X					X		SvG ²		X			Keine Angaben
Ricketts et al. [1997b]		X						4-6				X			Marthaler [1966]
Gray und Paterson [1997]	X	X						X					X		Gray und Paterson [1997]
Ekstrand et al. [1997] ³	X	X				X	X						X		Ekstrand et al. [1997]
Ashley et al. [1998] ³	X	X	X			X		X					X		Downer [1975]
¹ Visuelle und taktile Untersuchung/ ² Kombination aus Stevenel-Blaufärbung und van-Gieson-Färbung/ ³ ECM(Electronic Caries Monitor) wurde verwendet															

¹Visuelle und taktile Untersuchung/ ²Kombination aus Stevenel-Blaufärbung und van-Gieson-Färbung/ ³ECM(Electronic Caries Monitor) wurde verwendet

Fortsetzung Tabelle 4:

Studie	Kariesdiagnostik						Histologische Validierung der Kariesdiagnostikverfahren								
	VI	Rö	Foti	LF	QLF	ERM	Probenaufbereitung				Visualisierung				Quantifizierung der Kariesextension
							HEM	Schnitte	Schliff	Färbung	Foto	LM	SM	MR	
Huysmans et al. [1998]	X	X				X		X					X		Marthaler [1966]
Ferreira-Zandoná et al. [1998] ⁷	X			X				X				X			Ferreira-Zandoná et al. [1998b]
Lussi et al [1999] ³				X		X			X	RhB ⁴		X			Lussi et al. [1999]
Ando et al. [2000] ^{3/7}	X			X	X	X		X							Ando et al. [2000]
Cortes et al. [2000]	X	X	X					3					X		Ekstrand et al. [1997]
Shi et al. [2000]		X		X				X						X	Marthaler [1966]
El-Housseiny und Jamjoum [2001]	X			X				2					X		El-Housseiny u. Jamjoum [2001]
Pereira et al. [2001]	X			X		X		X					X		Marthaler [1966]
Tonioli et al. [2002] ⁵	X	X		X				X				X			Tonioli et al. [2002]
Grossman et al. [2002]	X	X	X					5-12				X			Grossman et al. [2002]
Costa et al. [2002]	X	X		X				X					X		Costa et al. [2002]
Alwas-Danowska et al. [2002]	X			X			X				X				Alwas-Danowska et al. [2002]
Naphausen et al. [2002]	X			X			X				X				Alwas-Danowska et al. [2002]
Cortes et al. [2003] ³	X		X	X		X		X					X		Cortes et al. [2003]
Kordic et al. [2003] ³	X			X		X	X							X	Marthaler [1966]
Reis et al. [2004]	X	X		X				X					X		Ekstrand et al. [1997]
Fung et al. [2004]	X			X				X					X		Fung et al. [2004]
Burin et al. [2005]	X	X		X			X						X		Ekstrand et al. [1997]

³ECM(Electronic Caries Monitor) wurde verwendet/ ⁴Rhodamin-B-Färbung/ ⁵Kariesdetektor wurde zur Kariesdiagnostik verwendet/ ⁷Validierung mit CLSM

Fortsetzung Tabelle 4:

Studie	Kariesdiagnostik						Histologische Validierung der Kariesdiagnostikverfahren								
	VI	Rö	Foti	LF	QLF	ERM	Probenaufbereitung				Visualisierung				Quantifizierung der Kariesextension
							HEM	Schnitte	Schliff	Färbung	Foto	LM	SM	MR	
Angnes et al. [2005]	X			X					X	RhB ⁴			X		Ekstrand et al. [1997]
Lussi und Hellwig [2006]	X			X				2-3				X			Marthaler [1966]
Souza-Zaroni et al. [2006]	X	X		X				X				X			Marthaler [1966]
Reis et al. [2006]	X			X			X						X		Ekstrand et al. [1997]
Jablonski-Momeni et al. [2008]	X							11-15					X		Downer [1975]/Ekstrand et al. [1997]
Rodrigues et al. [2008]	X	X		X					X	RhB ⁴		X			Marthaler [1966]
Swenson/Hennessey [2009]	X	X						X			X				Swenson und Hennessey [2009]
Pereira et al. [2009] ³	X	X		X	X	X		X					X		Marthaler [1966]
Diniz et al. [2009a]		X							X	RhB ⁴		X			Marthaler [1966]
Diniz et al. [2009b]	X								X	RhB ⁴		X			Ekstrand et al. [1997]/Lussi et al. [1999]
Kühnisch et al. [2009]	X	X						X				X		X	Marthaler [1966]
de Paula et al. [2009]	X			X			X							X	de Paula et al. [2009]
Rodrigues et al. [2009]	X			X			X						X		Rodrigues et al. [2008]
Shoaib et al. [2009]	X							X				X			Downer [1975]/Ekstrand et al. [1997]
Braga et al. [2009]	X							X				X			Downer [1975]
Jablonski-Momeni et al. [2009a und 2010b ⁶]	X							11-15				X			Downer [1975]
Jablonski-Momeni et al. [2010a]	X							X					X		Downer [1975]
Neuhaus et al. [2010]	X	X		X					X	AL ⁷					Lussi [1991]

³ECM(Electronic Caries Monitor) wurde verwendet/ ⁴Rhodamin-B-Färbung/ ⁶Untersuchung der Schnitte mit Diagnodent 2095/ ⁷Kontrastfärbung

³ECM(Electronic Caries Monitor) wurde verwendet/ ⁴Rhodamin-B-Färbung/ ⁶Untersuchung der Schnitte mit Diagnodent 2095/ ⁷Kontrastfärbung

Fazit: Das bisherige Vorgehen zur Bestimmung der histologischen Kariesausdehnung sollte aufgrund vieler aufeinander folgender Arbeitsschritte immer detailliert dokumentiert werden. Dazu wurden in der Vergangenheit unterschiedliche Methoden beschrieben und eingeführt, die den drei essenziellen Arbeitsschritten

- histologische Aufbereitung der Zahnprobe
- Visualisierung der kariösen Läsion
- Semi-/Quantifizierung der Kariesausdehnung

zugeordnet werden können. Problematischerweise nutzen bisherige Untersuchungen weitestgehend keine einheitliche Methodik im Rahmen der Validierung des kariösen Prozesses. Daraus ist zu konkludieren, dass einerseits Diagnostikstudien, welche als integraler Bestandteil des Studienkonzepts auf die Validierung der Kariesausdehnung (Referenzstandard) zurückgreifen, durch die Methodik der Validierung beeinflusst werden und andererseits dringender Forschungsbedarf besteht, die Methodik der Validierung zu optimieren. Bestenfalls wäre eine Standardisierung anzustreben.

Zudem muss an dieser Stelle darauf hingewiesen werden, dass bislang ebenso Untersuchungen fehlen, welche die „Validität“ des Referenzstandards thematisieren.

1.3. Klinische Kariesdiagnostik

1.3.1. Epidemiologie und Problematik der Okklusalkaries

Zu Beginn der achtziger Jahre wurde erstmals über einen signifikanten Kariesrückgang („caries decline“) in kindlichen und jugendlichen Populationen westlicher Industrienationen berichtet [Glass 1982], welcher sich in der Gegenwart fortgesetzt hat [Marthaler 2004]. Dieser erfreuliche Trend konnte in den letzten Jahren auch in der Bundesrepublik Deutschland nachgewiesen werden [Pieper 1996, Pieper 1998, Pieper 2001, Pieper 2005, Micheelis et al. 2007]. Die negative Ausprägung dieser Entwicklung liegt jedoch darin, dass sich ein Großteil der kariösen Läsionen auf einen relativ geringen Anteil der Jugendlichen verteilt. So geht aus der vierten deutschen Mundgesundheitsstudie [Micheelis et al. 2007] hervor, dass 10,2% der untersuchten 12-Jährigen 60,1% des Kariesbefalls ihrer

Altersgruppe auf sich vereinen. Bei den 15-Jährigen konzentrierten sich 79,2% der Karieserfahrung auf 26,8% der Untersuchten.








Parallel zu dem beobachteten „caries decline“ wurden ebenfalls Veränderungen im Kariesbefallsmuster offensichtlich. Bis etwa zum 13./14. Lebensjahr konzentriert sich der Kariesbefall mit 60 bis über 90% auf die Fissuren und Grübchen der Molaren [Kühnisch et al. 2001, 2003]. Damit wird deutlich, dass die bleibenden Molaren und deren Fissuren und Grübchen die Zähne bzw. Zahnflächen mit der höchsten Kariesgefährdung im Kindes- und Jugendalter sind. Die Ursache hierfür ist die mangelnde Selbstreinigung bis zur endgültigen Okklusionsfindung [Carvalho et al. 1989] und die fehlende Möglichkeit der häuslichen und professionellen Reinigung der Okklusalfächen aufgrund einer häufig ungünstigen Fissurenmorphologie [Lussi und Schaffner 2002]. Auch die fehlende posteruptive Schmelzreifung und eine begrenzte kariesprotektive Fluoridwirkung in der Fissur werden als ursächlich angesehen [Fennis-le et al. 1998, Pearce et al. 1999]. Ein weiterer prädisponierender Faktor für die Entstehung einer Okklusalkaries ist die meist nur sehr geringe Schmelzdicke im Bereich des Fissurenfundus, die bis auf wenige zehntel Millimeter reduziert sein kann [Rohr et al. 1991].

Neben der Konzentration des Kariesbefalls auf die Okklusalfächen änderte sich weiterhin das klinische Erscheinungsbild kariös bedingter Okklusalläsionen. Während das Auftreten manifester, kavitiertter Läsionen im Kindes- und Jugendalter immer mehr in den Hintergrund tritt, ist demgegenüber eine Verschiebung zugunsten von nicht kavitierten kariösen Läsionen zu verzeichnen. Diese Kariesvorstufen werden klinisch als verfärbte Fissuren und/oder kreidige Demineralisationen registriert [Ekstrand et al. 1997, 1998b, Nyvad et al. 1999]. In diesem Zusammenhang wurde der Begriff der „hidden caries“ geprägt [Ricketts et al. 1997a]. Hierbei handelt es sich um eine röntgenologisch weit fortgeschrittene Dentinläsion, bei makroskopisch intakter Schmelzoberfläche, die bei der alleinigen klinischen Untersuchung nicht festgestellt werden kann.

1.3.2. Visuelle Untersuchung nach den ICDAS-Kriterien

Die traditionelle Kariesdiagnostik war durch die visuell-taktile Untersuchung der Okklusalfächen mit zahnärztlichem Spiegel und zahnärztlicher Sonde geprägt. Dieses Vorgehen kann aus heutiger Sicht jedoch nicht mehr befürwortet werden,

Abbildung 3: ICDAS-Kriterien

Code 0		Gesunde Zahnoberfläche, keine sichtbaren kariösen Veränderungen nach fünf Sekunden Luftstrom
Code 1		Erste sichtbare Veränderung in der Schmelzoberfläche, die erst nach Trocknung (fünf Sekunden) zu erkennen ist
Code 2		Deutlich sichtbare Veränderung der Schmelzoberfläche, die bereits am feuchten Zahn zu erkennen ist, sich aber auf die Fissuren und Grübchen beschränkt
Code 3		Lokalisierter Schmelzeinbruch ohne sichtbares Dentin
Code 4		Schattenbildung im Dentin mit oder ohne Schmelzeinbruch
Code 5		Deutliche Kavitätenbildung mit sichtbarem Dentin
Code 6		Großflächige Kavitätenbildung mit deutlich sichtbarem Dentin.

da Untersuchungen ergaben, dass die Sondierung keinen zusätzlichen diagnostischen Informationsgewinn erzielt [Lussi 1991, Penning et al. 1992, Gray und Paterson 1997] und vielmehr die Gefahr der iatrogenen Zerstörung arretierbarer, nicht kavierter Schmelzanteile besteht [Yassin 1995, Kühnisch et al. 2007a]. Somit sollte der visuellen (Okklusal-)Kariesdiagnostik im klinischen Alltag der Vorzug eingeräumt werden und auf die taktile Untersuchung mit der spitzen zahnärztlichen Sonde verzichtet werden.

In Konsequenz dieser Erkenntnisse wurden verschiedene Verfahren zur visuellen Beurteilung der klinischen Erscheinungsbilder der Karies entwickelt und publiziert. Es ist allgemein akzeptiert, dass für die klinische Kariesdiagnose ein System verwendet wird, welches kariöse Läsionen bereits im frühen (nicht kavitierten) Stadium detailliert erfasst. Daher ist es für die visuelle Kariesdiagnostik von Bedeutung, dass ein System mit detaillierten Einteilungskriterien für solche initialen Läsionen verwendet wird. Dies ist maßgeblich, um nicht kavitierte Läsionen visuell verlässlich zu detektieren, die diagnostische Aussagekraft der visuellen Untersuchung zu erhöhen und Veränderungen kariöser Läsionen im Rahmen eines Kariesmonitorings zu erkennen. Als Quantensprung der visuellen Okklusalkariesdiagnostik ist aus heutiger Sicht die Einführung der Kriterien von Ekstrand et al. [1997, 1998b, 2001] zu werten. Hierbei handelt es sich um ein fünfstufiges System bei dem Opazitäten und Braunverfärbungen dokumentiert werden, die auf dem feuchten Zahn kaum, aber auf der luftgetrockneten Zahnoberfläche deutlich sichtbar sind. Solche Läsionen sind mehrheitlich mit einer Schmelzkaries assoziiert. Dagegen sind weißliche Verfärbungen und Braunverfärbungen, die sich auf der feuchten Zahnoberfläche diagnostizieren lassen, auf die innere Schmelzhälfte oder bis zum äußeren Drittel des Dentins ausgedehnt. Durch Karies bedingte Mikrokavitäten sowie Läsionen, die mit einer gräulichen Transluzenz des Dentins verknüpft sind, haben eine Ausdehnung bis ins mittlere Dentindrittel, während Kavitäten im kreidigen oder braun verfärbten Schmelz eine Demineralisation bis in das innere Dentindrittel aufweisen. Diese Kriterien sind in die Entwicklung des International Caries Detection and Assessment System (ICDAS) eingeflossen, welches in der heutigen Form erstmals 2005 vorgestellt wurde und insgesamt sieben Kriterien umfasst (Abb. 3) [Pitts 2004b, ICDAS 2005a und 2005b, Topping und Pitts 2009]. Des Weiteren basieren die ICDAS-Kriterien auf der Grundlage der Erkenntnisse einer

Literaturrecherche [Ismail 2004] und verschiedenen Veröffentlichungen [Chesters et al. 2002, Fyffe et al. 2000a, 2000b, Ekstrand et al. 1997, 2001, 2005, Ricketts et al. 2002] zu dem Thema der visuellen Kariesdiagnostik [ICDAS 2005a]. Das Ziel war der Entwurf einer standardisierten Methode, die auf Evidenz der bisher bestehenden Methoden basiert und die Diagnose, Prognose sowie die Entscheidung über das klinische Management der Karies erlaubt [Pitts 2004a]. Zudem sollten mit Hilfe des ICDAS Studien besser in Übersichtsarbeiten oder Meta-Analysen Eingang finden [Richards 2005].

Als Voraussetzung für eine valide Diagnostik wird die gründlich gesäuberte Zahnoberfläche angesehen. Darüber hinaus muss für die Untersuchung die Möglichkeit einer ausreichenden Lufttrocknung gegeben sein. Kleinere Kavitäten können unter Zuhilfenahme einer stumpfen Parodontal- oder CPI-Sonde drucklos auf Rauigkeiten kontrolliert werden [ICDAS 2005b], welche Hinweise auf eine mögliche Aktivität der Läsion geben können [Braga et al. 2009].

Für das ICDAS wurden bezüglich der Validität sowie der Reproduzierbarkeit erste Untersuchungen vorgenommen, welche gute bis sehr gute Ergebnisse lieferten [Jablonski-Momeni et al., 2008, 2009b, 2010a und 2010b, Diniz et al. 2009, Shoaib et al. 2009]. Bislang liegen noch keine Daten einer unabhängigen Validierung des ICDAS vor, so dass diesbezüglich Forschungsbedarf besteht. Außerdem wurde das ICDAS bisher noch nicht mit dem μ CT validiert.

Fazit: Da die 2005 vorgestellten ICDAS-Kriterien mittlerweile eine weite Verbreitung und Akzeptanz in kariologischen Fachkreisen gefunden haben, ist die Bedeutung dieser Kriterien für die Zukunft nicht zu unterschätzen. Unter Verknüpfung des vorgenannten Sachverhalts, der kritischen Wertung des Referenzstandards, soll mit der vorliegenden Arbeit der Einfluss des histologischen Validierungsprozesses auf das Endergebnis exemplarisch für die ICDAS-Kriterien herausgearbeitet werden.

Weiteres Alleinstellungsmerkmal der vorliegenden Arbeit ist die erstmalige Validierung der ICDAS-Kriterien mit dem μ CT.

2. Zielstellung

Zur Validierung einer diagnostischen Methode ist die histologische Erfassung der Kariesausdehnung eine notwendige Voraussetzung. Aufgrund der in der Einleitung herausgearbeiteten Kritik an dem histologischen Vorgehen zur Dokumentation der Kariesausdehnung erscheinen methodische Überlegungen zu dieser Thematik unumgänglich. Dies sollte vordergründig mit dem Ziel geschehen, die notwendigen histologischen Arbeitsabläufe vergleichend zu analysieren. Als zukunftsweisender Aspekt ist dabei die Berücksichtigung des μ CTs zu nennen, welches eine non-destruktive Probenanalyse ermöglicht. Neben entsprechenden Vergleichen fokussiert die Zielstellung der vorliegenden Arbeit auf den erstmaligen Einsatz als Validierungsinstrument für eine Kariesdiagnostikmethode. Ziel dieser Untersuchung ist es, folgende Fragestellungen im Detail zu beantworten:

1. Gibt es Unterschiede bei der Erfassung der Kariesausdehnung mit dem μ CT und dem konventionellen histologischen Vorgehen?
2. Welche diagnostische Güte kann mit dem ICDAS an Okklusalfächen bei der histologischen Validierung mit dem μ CT und dem konventionellen Vorgehen erzielt werden?
3. Welchen Einfluss hat die Wahl des Indexes zur Erfassung der histologischen Kariesprogression auf die diagnostische Güte?
4. Welche Vor- und Nachteile ergeben sich bei der Verwendung des quantitativen CE-Index im Vergleich zur konventionellen semiquantitativen Einschätzung der Kariesausdehnung?
5. Entspricht der im μ CT feststellbare Schwarzwert der im Lichtmikroskop auftretenden Zone der Nekrose?

3. Material und Methoden

3.1. Auswahl und Vorbereitung des Probenmaterials

Für die Untersuchung wurden insgesamt 206 Zähne ausgewählt. Die Probenauswahl enthielt gesunde Zähne sowie solche mit (nicht) kavitierten kariösen Läsionen der Okklusalfächen. Zähne mit Fissurenversiegelungen, Füllungen, approximalen und bukkalen kariösen Läsionen sowie extraktionsbedingten Beschädigungen wurden ausgeschlossen. Die Zähne wurden aus kieferchirurgischen bzw. kieferorthopädischen Gründen mit dem Einverständnis der Patienten extrahiert. Alle Patienten wurden über die Verwendung der Zähne für wissenschaftliche Untersuchungen informiert und gaben hierzu ihr Einverständnis. Um Fäulnisprozesse zu vermeiden, wurden die Zähne in einer 0,02-prozentigen natriumazidhaltigen, physiologischen Kochsalzlösung (pH-Wert 7,68) gelagert. Diese wurde regelmäßig ausgetauscht. Anhaftende Gewebereste sowie (an)organische Auflagerungen wurden vom Probenmaterial sorgfältig entfernt. Im Anschluss wurde eine Reinigung mit dem Pulverstrahlgerät PROPHYflex™ (KaVo Dental GmbH, Biberach, Deutschland) und einem rotierenden Bürstchen durchgeführt. Die Proben wurden einzeln durchnummeriert und weiterhin in 0,02-prozentiger natriumazidhaltiger, physiologischer Kochsalzlösung aufbewahrt. Vor Beginn der Untersuchungen erfolgte die fotografische Dokumentation der Okklusalfächen aller Zähne.

3.2. Visuelle Kariesdiagnostik

3.2.1. Methode von ICDAS

Die visuelle Diagnostik erfolgte entsprechend der ICDAS-Kriterien (Abb. 3). Alle Untersucher hatten zur Festlegung der visuellen Diagnose eine zahnärztliche Behandlungseinheit mit Operationsleuchte und einer Multifunktionsspritze zur Verfügung. Letztere ermöglichte die geforderte 5-sekündige Trocknung der Zähne sowie eine (Wieder-)Befeuchtung. Spitze Sonden waren zu allen Untersuchungszeitpunkten untersagt, um eine Alteration der zu untersuchenden Oberflächen zu vermeiden [Kühnisch et al. 2007a]. Die Verwendung einer CPI Sonde PCP11.5B6 (Hu-Friedy, Chicago, USA) war als Größenreferenz und zur Kontrolle kleinerer Kavitäten gefordert. Um eine Dehydration der Proben zu

vermeiden, wurden die Untersucher angewiesen, die Zähne nur kurzzeitig aus den Probenbehältern zu entnehmen, luftzutrocknen, zu bewerten und anschließend eine umgehende Rücklagerung sicherzustellen. Die Zähne wurden vor einer erneuten Untersuchung mindestens 10 Minuten rehydriert [ICDAS 2005b].

3.2.2. Festlegung der Konsensdiagnose zur Validierung von ICDAS

Zur Erhebung der Konsensdiagnose wurde von drei Untersuchern MS, MG und JK eine visuelle Diagnose für jede Okklusalfäche erhoben. Um inkorrekte Befunde auszuschließen, wurden alle Diagnosen eine Woche später unabhängig voneinander gegengeprüft, um letztlich einen Konsens für jede zu untersuchende Stelle auf der Okklusalfäche zu erzielen. Unterschiedliche Ergebnisse wurden von allen Untersuchern gemeinsam besprochen, um sich abschließend auf eine Diagnose zu einigen. Hierbei wurden an einigen Okklusalfächen mehrere Punkte (Sites) berücksichtigt, welche auf den Farbfotografien vorab ausgewählt wurden. Dies ermöglichte eine punktbezogene (sitespezifische) Validierung für die visuelle Diagnose.

3.3. Validierung der Kariesdiagnostikmethode

Die Abbildung 4 soll einen Überblick für die in dieser Untersuchung durchgeführten Arbeitsschritte zur Validierung der Okklusalkaries vermitteln. Die nötigen Maßnahmen von der Probenaufbereitung über die Visualisierung bis zur Quantifizierung der Kariesprogression sind dort grafisch dargestellt.

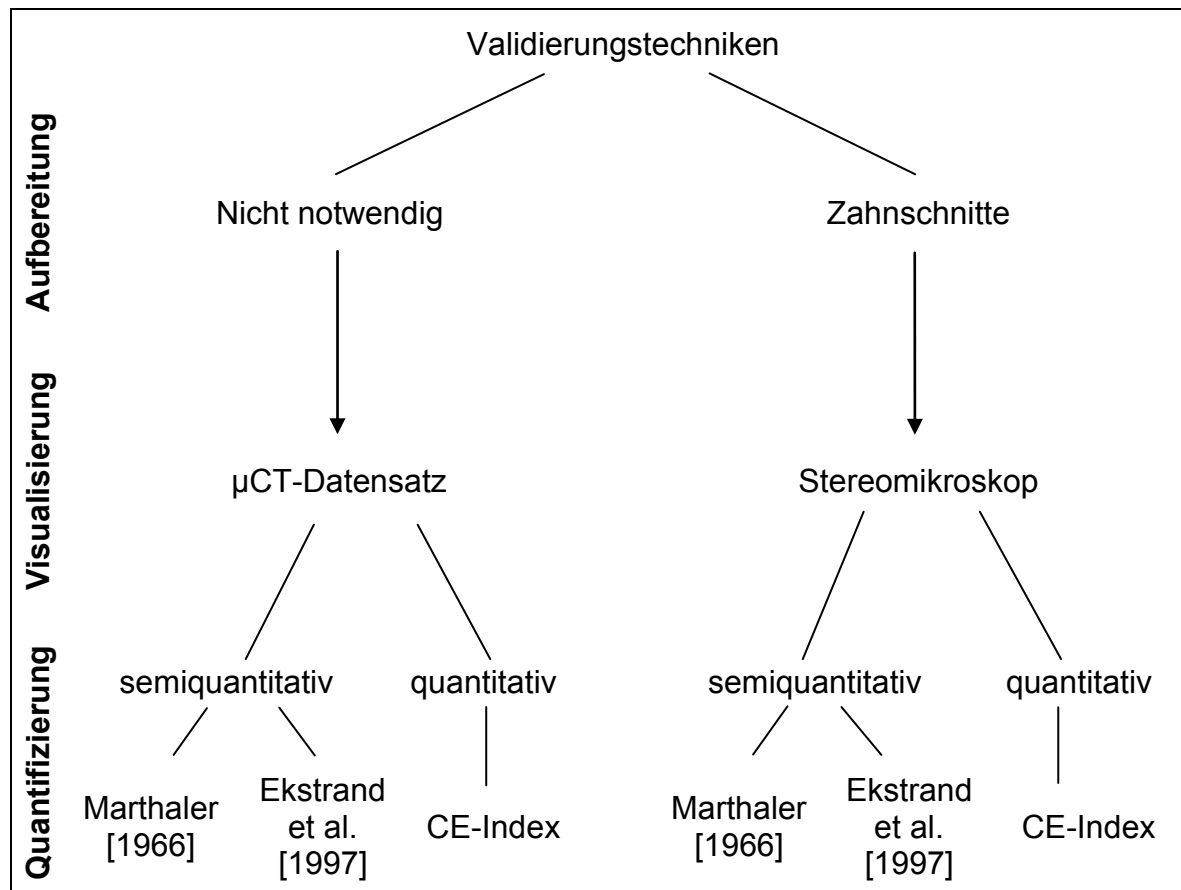


Abbildung 4: Schematische Darstellung der aufeinanderfolgenden Arbeitsschritte für die non-destruktive und die destruktive Validierung der Okklusalkaries in der vorliegenden Studie

3.3.1. Mikrocomputertomografie

Die mikrocomputertomografische Untersuchung erfolgte mit dem Gerät μ CT40 (Scanco Medical, Bassersdorf, Schweiz) der dritten Generation mit Cone-Beam-Technologie (Abb. 5). Die Röntgenparameter betrugen 70kV bei 11 μ A bei einer mittleren Auflösung von 1024x1024 Pixel. Jeder Zahn wurde standardisiert vom koronalen Anteil des Pulpenkavums bis zu den Höckerpitzen in Scans mit 395 Schichten erfasst. Die Scanzeit betrug pro Zahn etwa 1,5 h. Die CT-Rohdaten (*.rsq) wurden mit einem Mu-Scaling-Faktor von 4096 zu 3D-Datensätzen (*.isq)

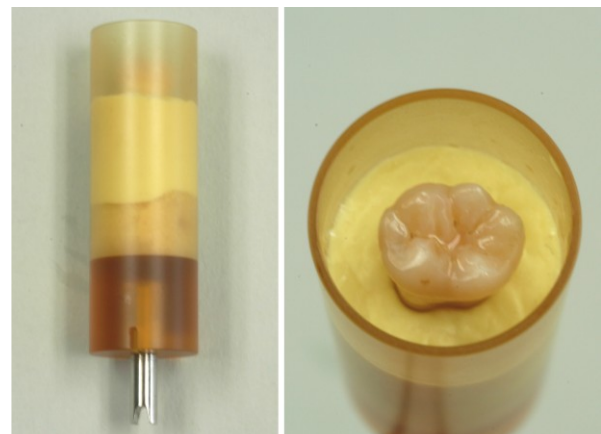
rekonstruiert. Die CT-Rohdaten (*.rsq) sowie die 3D-Datensätze (*.isq) wurden zahnbezogen für spätere Untersuchungen archiviert.

Abbildung 5: μ CT (μ CT40 Scanco Medical) mit zugehörigem PC zur Steuerung



Zum Scanvorgang wurden die Zähne in einem Probenhalter (Innendurchmesser 20,5 mm) mit einer Silikonmasse (Optosil Heraeus, Hanau, Deutschland) zentral positioniert (Abb. 6). Um eine Austrocknung zu vermeiden, wurde ein feuchtes Wattepellet auf die Okklusalfäche des Zahnes aufgebracht und der Probenhalter mit einer Folie (Parafilm M, Pechiney Plastic Packaging, Chicago, USA) verschlossen. Die Zahnkrone konnte so überlagerungsfrei dargestellt werden.

Abbildung 6: Mit Silikon gefüllter Probenhalter



3.3.2. Konventionelles Vorgehen

Die Schnittebene wurde nach Auswertung der μ CT-Daten für jeden Zahn individuell festgelegt und auf den zuvor angefertigten Fotos der Okklusalfächen eingezeichnet. Zudem wurde darauf geachtet, dass bei Proben mit zwei

untersuchten Stellen diese beiden Bereiche vom späteren Sägeschnitt erfasst würden.

Im Anschluss daran wurde die Wurzel der Zähne mit der Säge Vari/Cut VC-50 (Leco GmbH, St. Joseph, U.S.A.) unterhalb der Schmelz-Zement-Grenze abgetrennt. Um ein mikroretentives Ätzmuster und somit einen guten Verbund der Zahnkrone zu dem Einbettkomposit zu erzielen, wurden die Zahnkronen mit einer 35-prozentigen Phosphorsäurelösung (Gluma Etch 35 Fluid, Heraeus Kulzer GmbH & Co. KG, Wehrheim, Deutschland) für eine Minute konditioniert. Die zuvor festgelegte Schnittebene wurde dann mit einem wasserfesten Folienschreiber (Faber-Castell AG, Stein, Deutschland) im Randbereich der Okklusalfäche mittels zwei Punkten auf den Zahn übertragen. Das Einbetten der Zahnproben erfolgte mit Hilfe einer eigens dafür hergestellten Silikonform (Addisil® Rose, Siladent-Technik GmbH, Goslar, Deutschland) (Abb. 7) mit einem selbstpolymerisierenden Methacrylatkunststoff (Technovit 4004 Heraeus Kulzer GmbH & Co. KG, Wehrheim, Deutschland).

Abbildung 7: Silikonform zur Einbettung des Probenmaterials

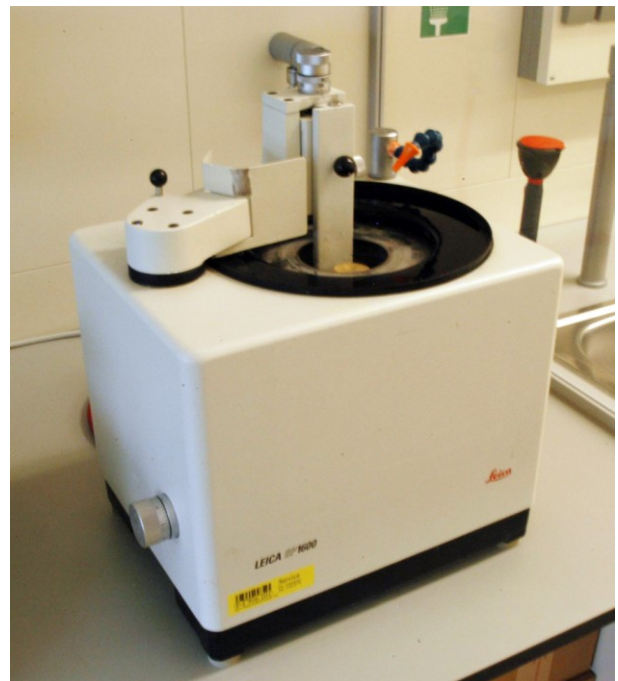


Beim Einbetten wurde die Okklusalfäche der Zahnproben nicht mit Kunststoff bedeckt, um die zuvor angezeichnete Schnittebene weiterhin nachvollziehen zu können. Zudem konnte so ein weiteres Foto der Okklusalfäche mit angelegtem Sägeschnitt angefertigt werden (Abb. 9 und 10). Nachdem die Polymerisation des Methacrylatkunststoffes abgeschlossen war, wurde die Okklusalfäche mit einer Schicht Bonding (Heliobond, Ivoclar Vivadent GmbH, Ellwangen, Deutschland) benetzt und für 20 Sekunden lichtgehärtet. Mit Hilfe der dünnen Bondingschicht konnte ein Herausbrechen okklusaler Schmelzanteile weitgehend vermieden werden. Die Proben wurden dann entsprechend der angezeichneten Schnittebene

auf dem Probenhalter der Innenlochsäge (Leica SP 1600, Leica Microsystems GmbH, Nussloch, Deutschland) (Abb. 8) ausgerichtet und auf diesem mit Sekundenkleber fixiert.

Alle Schnitte wurden mit einem diamantierten Sägeblatt der Dicke 280µm und einer Umdrehungszahl von 600 U/min angefertigt. Während des Sägens wurde mit einem minimalen Schneidedruck und einer ausreichenden Wasserkühlung gearbeitet, mit der Absicht, eine Überhitzung und Verformung der Präparate zu verhindern. Während des Schneidevorgangs wurden die Präparate nicht von dem Probenhalter entfernt, um einen minimalen Substanzverlust und parallele Schnittflächen zu erhalten.

Abbildung 8: Innenlochsäge (Leica SP 1600)



Zunächst wurde ein Schnitt oberhalb, im Anschluss daran einer unterhalb der angezeichneten Ebene geführt. Die Schnitte wurden so angelegt, dass sie den Präparatblock nicht vollständig durchtrennten, so dass dieser zunächst erhalten blieb. Somit war es möglich, nach dem Schneiden ein weiteres Foto der Okklusalfäche mit den eingebrachten Sägeschnitten anzufertigen und so den genauen Verlauf der Schnittebene fotografisch zu dokumentieren (Abb. 9 und 10). Auf den Abbildungen sind die beiden mit Folienschreiber angebrachten Markierungen zur Festlegung der Schnittebene im Randbereich des Schnittpräparates gut zu erkennen.

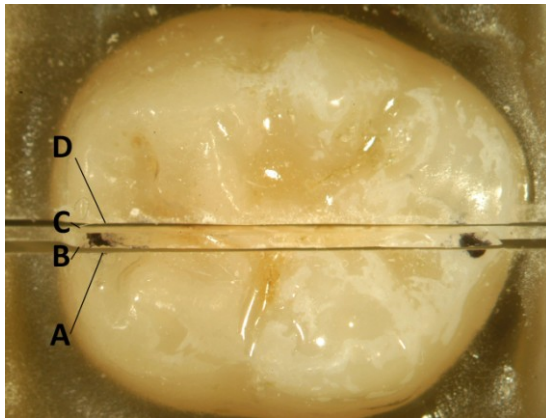


Abbildung 9: Okklusalansicht nach mesio-distaler Schnittführung

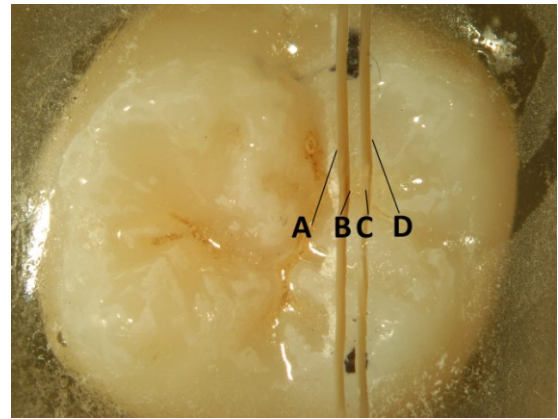


Abbildung 10: Okklusalansicht nach oro-vestibulärer Schnittführung

Im Anschluss wurde der Probenblock vorsichtig durch Brechen der dünnen Restsubstanz des Methacrylatkunststoffes getrennt. Daraufhin lagen je zwei Blockpräparate vor (Abb. 11), die mit den Großbuchstaben A (je nach Schnittführung der mesiale oder linguale Anteil des Blocks) oder D (je nach Schnittführung der distale oder bukkale Anteil des Blocks) bezeichnet wurden, zusätzlich ein Schnittpräparat, (Abb. 12) dessen eine Seite mit B (die dem Blockpräparat A zugewandte Seite) und die andere mit C (die dem Blockpräparat D zugewandte Seite) benannt wurde (Abb. 9 und 10). Die genaue Dicke der Schnittpräparate wurde mit einer Mikrometerschraube (Mikrometerschraube mit Digitalanzeige, 0 - 35 mm; 0,001 mm Fa. Mitutoyo, Japan) ermittelt und dokumentiert.



Abbildung 11: Blockpräparat

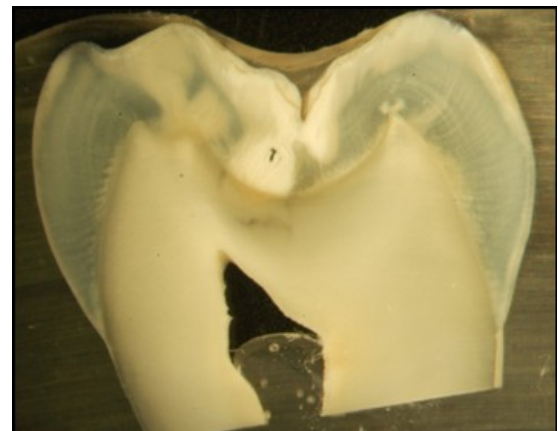


Abbildung 12: Schnittpräparat

Nach dem Durchtrennen des Probenblocks erfolgte die Darstellung der Schnittflächen durch ein Stereomikroskop (Stemi SV 11, Carl Zeiss, Oberkochen, Deutschland) (Abb. 13) mit 0,6facher und 1,0facher Vergrößerung. Die Betrachtung erfolgte im Auflicht. Die Schnittflächen der beiden Blockpräparate und die beiden Seiten des Schnittpräparates wurden mit der Spiegelreflexkamera D100 (Nikon GmbH. Tokio, Japan) in den oben genannten Vergrößerungen dokumentiert. Die Aufnahmen wurden umgehend mit der jeweiligen Zahnnummer, Schnittfläche und Vergrößerung versehen und auf einem PC abgespeichert. Die Größe der entstandenen Bilder betrug 3008 x 2000 Pixel.

Abbildung 13: Stereomikroskop (Stemi SV 11)



3.4. Auffinden der identischen Stellen im Mikrocomputertomogramm und im histologischen Schnittpräparat

Zum Auffinden der identischen Stellen im mikrocomputertomografischen und histologischen Schnittbild wurde das Programm ImageJ 1.42o (Wayne Rasband, National Institutes of Health, U.S.A.) verwendet. Die Auswertung erfolgte gleichzeitig an zwei Rechnern. Im ersten Schritt wurde das Lichtbild der Okklusalfäche des eingesägten aber noch nicht getrennten Präparatblocks aufgerufen. Parallel dazu wurde mit dem Programm ImageJ der Datensatz des μ CTs des entsprechenden Zahnes aufgerufen. Nun wurde der Datensatz des μ CTs so lange ausgerichtet, bis der Umriss der Zahnkrone mit dem des Lichtbildes deckungsgleich war (Abb. 14).



Abbildung 14: Übereinstimmende Ausrichtung der Zahnkrone im Lichtbild und im µCT-Datensatz

Durch das Betätigen der Taste „y“ bei geöffnetem Datensatz des µCTs konnte nun der virtuelle Schnitt aufgerufen werden (Abb. 15). Auf der rechten Seite des Umrisses der Zahnkrone erschien nun das Bild, welches einem Schnitt in oro-vestibulärer Richtung entspricht. Unterhalb der Umrissform erschien das Schnittbild mit mesio-distaler Schnittrichtung.

Parallel dazu wurde das histologische Schnittbild mit der am weitesten fortgeschrittenen kariösen Läsion aufgerufen. Um eine identische Ausrichtung der histologischen Bilder und der mikrocomputertomografischen Schnittbilder zu erhalten, mussten bei oro-vestibulärer Schnittrichtung die histologischen Bilder B und D, bei mesio-distaler Schnittrichtung die histologischen Bilder A und C an einer vertikalen Achse gespiegelt werden.

Durch Anklicken der virtuellen Schnittebenen im Datensatz des µCTs (gelbes Kreuz in der Okklusalaufsicht in der Abbildung 15) mit dem Cursor konnten die Schnittebenen verschoben werden. Dies wurde solange durchgeführt, bis eine Übereinstimmung verschiedener Merkmale (Fissurenrelief, Verlauf der Schmelz-Zement-Grenze, Schmelzwülste, Form des Pulpencavums) zwischen dem Schnitt des µCTs und dem histologischen Schnittbild gefunden wurde. Ein Beispiel für eine solche Übereinstimmung ist in den Abbildungen 16 und 17 zu sehen.

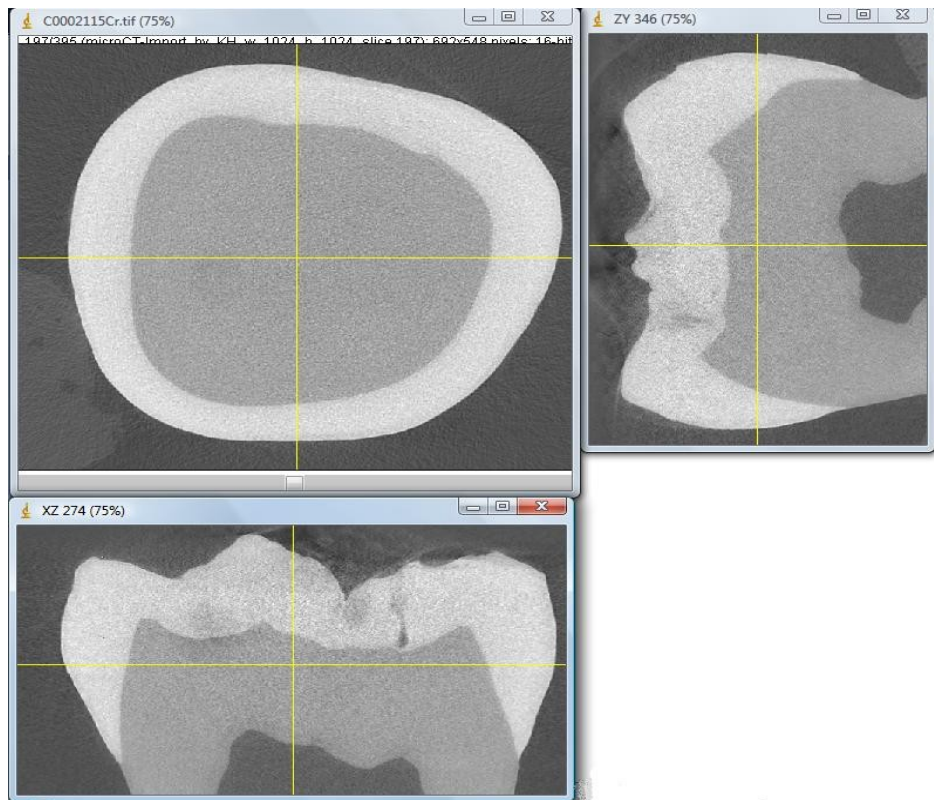


Abbildung 15: Aufgerufene μ CT-Schnitte

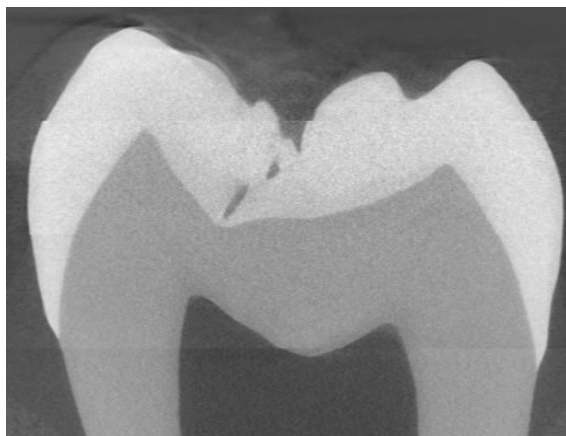


Abbildung 16: Schnittbild aus dem μ CT-Datensatz

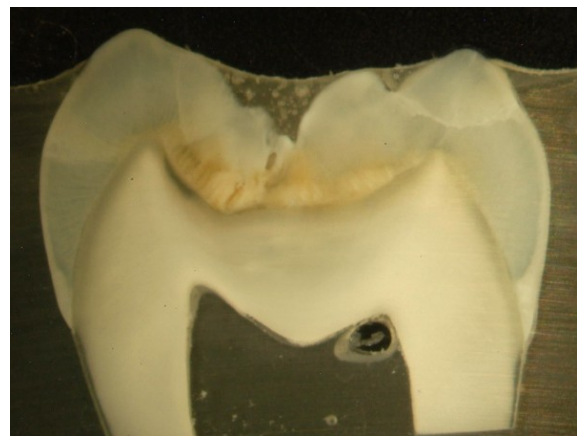


Abbildung 17: Histologisches Schnittbild

3.5. Registrierung der Kariesextension

Nach dem Auffinden der identischen Schnittebene in der mikrocomputertomografischen und der histologischen Aufnahme wurden die Bilder abgespeichert. Die Registrierung der Kariesextension erfolgte quantitativ mit dem CE-Index [Bücher et al. 2008, Kühnisch et al. 2009]. Mit Hilfe des Programms

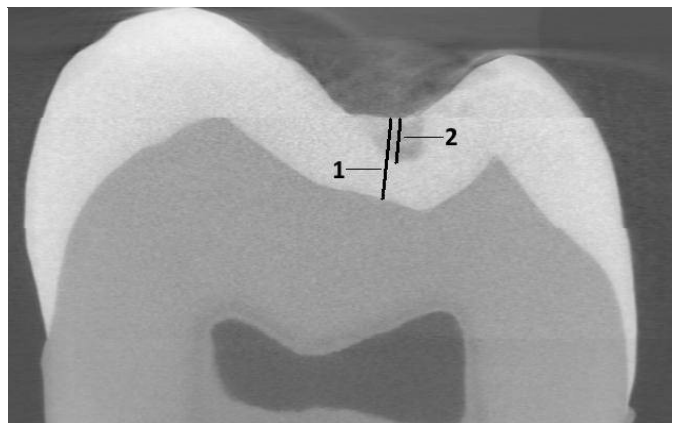
„ImageJ“ (Plugin „Measure and Label“) wurde nun im Schnittbild des μ CTs und im Bild des histologischen Schnittes, in einer Konsensentscheidung, jeweils die Schmelz- bzw. Dentindicke an der identischen Läsion für den CE-Index festgelegt. Die konsensuelle Auswertung wurde vom Autor (MS) und zwei weiteren Untersuchern (MG + JK) durchgeführt. Im zweiten Schritt wurde, wieder im Konsens, die für die Berechnung des CE-Indexes nötige Läsionstiefe der Schmelz- bzw. Dentinläsion an dem Schnittbild des μ CTs und am histologischen Schnittbild vermessen. Waren bei einer Läsion weitere eindeutige Zahnhartsubstanzveränderungen (Zone der Nekrose und Transluzenz) zu erkennen, so wurden diese zusätzlich mit eingezeichnet und ausgewertet.

3.5.1. Kariesextension in der Microcomputertomografie

In einem μ CT-Bild, wie auch bei konventionellen Röntgenbildern, können kariöse Veränderungen als eine Abstufung von Grauwerten bis hin zu einem Schwarzwert wahrgenommen werden.

Bei Schmelzläsionen wurde die Gesamtdicke des Schmelzes (Strecke 1 in der Abbildung 18) und die Ausdehnung der Demineralisation (als Grauwertänderung, Strecke 2 in der Abb. 18) zur Auswertung herangezogen.

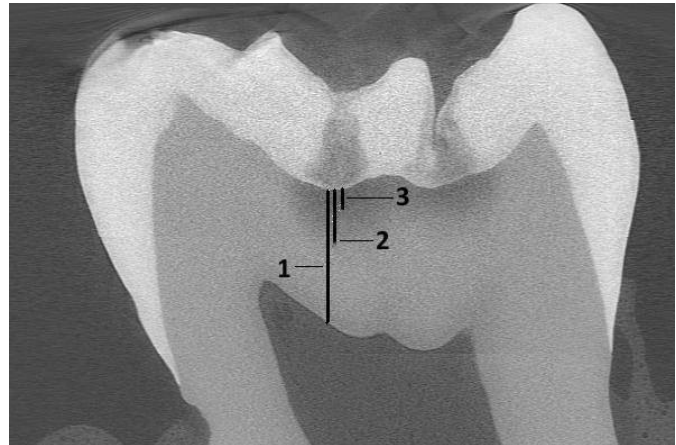
Abbildung 18: μ CT-Schnitt mit eingezeichneten Messstrecken einer Schmelzläsion:
1=Gesamtdicke Schmelz,
2=Läsionstiefe



Bei einer Dentinläsion wurde der Grauwert (Strecke 2 in der Abbildung 19) als Läsionsbereich definiert und erstreckte sich von der Schmelz-Dentin-Grenze soweit pulpawärts, bis wieder eine homogene Färbung der unveränderten Zahnhartsubstanz vorlag. Der Schwarzwert (soweit vorhanden, Strecke 3 in der Abbildung 19) wurde als ein optisch deutlich zu unterscheidender, dunklerer

Läsionsbereich zwischen der Schmelz-Dentin-Grenze und dem Beginn des demineralisierten Dentins definiert und konnte in Abhängigkeit der Läsionsprogression detektiert werden. Strecke 1 in der Abbildung 19 steht für die Gesamtdicke des Dentins.

Abbildung 19: μ CT-Schnitt mit eingezeichneten Messstrecken einer Dentinläsion;
 1=Gesamtdicke des Dentins
 2=Grauwert (=Nekrose + Demineralisation)
 3=Schwarzwert (=Nekrose)



3.5.2. Kariesextension in der Lichtmikroskopie

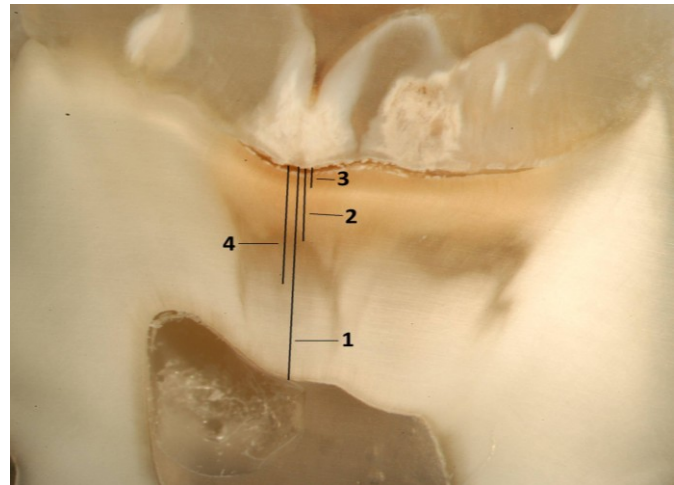
Bei kariösen Veränderungen, die im histologischen Schnittbild auf den Schmelz begrenzt waren (kreidige Opazitäten und Verfärbungen), wurde neben der Schmelzdicke nur eine weitere Strecke für die Läsionsausdehnung definiert (Abb.1).

Bei Dentinläsionen wurden neben der Dentindicke drei weitere Messstrecken festgelegt. Analog zur Grauwertänderung im μ CT wurde im Dentin eine Messstrecke von der Schmelz-Dentin-Grenze bis zum Beginn der transluzenten Zone eingezeichnet. War keine Zone der Transluzenz auszumachen, wurde das Ende der Strecke am Übergang vom gelbbraun verfärbten zum grauweißen, unveränderten Dentin festgelegt. Bei dieser Strecke handelte es sich um die Tiefe der kariösen Läsion (= Dentinverfärbung, Strecke 2 in der Abbildung 20). Sofern vorhanden, wurde eine weitere Strecke im dunkelbraun verfärbten, nekrotischen Dentin (=Zone der Nekrose, Strecke 3 in der Abbildung 20) festgelegt. War eine Zone der Transluzenz vorhanden, so wurde eine letzte Messstrecke eingezeichnet, die sich von der Schmelz-Dentin-Grenze bis zum Ende der transluzenten Dentinveränderung in Richtung der Pulpa, also bis zum unveränderten Dentin, erstreckte (Abb. 20).

Bekamen bei einem Zahn zwei Stellen ein ICDAS-Kriterium zugeordnet, so wurden diese zwei Stellen in die Auswertung einbezogen.

Die Messwerte aller Strecken wurden in eine Microsoft Excel Auswertungstabelle eingetragen. Alle histologischen Bilder und μ CT-Bilder wurden mit den eingezeichneten Strecken und den dazugehörigen Messwerten archiviert.

Abbildung 20: Histologisches Schnittbild einer Dentinläsion mit Messstrecken:
1=Gesamtdicke Dentin
2=Zone der Demineralisation
3=Zone der Nekrose
4=transluzente Zone



3.6. Statistische Auswertung

Alle statistischen Auswertungen erfolgten mit den Statistik-Programmen SPSS (Version 18, SPSS Inc., Chicago, IL, USA) und Excel 2007 (Microsoft Corporation, Redmond, WA, USA).

Als erstes wurden die mit Hilfe der Lichtmikroskopie und dem μ CT ermittelten Ergebnisse verglichen. Hierzu wurden die mit der jeweiligen Validierungsmethode festgestellten Werte der Kariesprogression (D0-D4) einander gegenübergestellt. Zudem wurde der Korrelationskoeffizient nach Pearson mit einem Signifikanzniveau von $p \leq 0,05$ berechnet.

Zur Beurteilung der Validität eines Diagnostikverfahrens wird die jeweilige Diagnose mit dem histologischen Referenzstandard abgeglichen. Die Grenzwertziehung erfolgte dabei auf dem Kariesdetektionsniveau (D0 versus D1-4) und dem Dentinkariesniveau (D0-2 versus D3-4). In der vorliegenden Arbeit fanden zwei Möglichkeiten der Validitätsbestimmung Verwendung. Zum einen wurden die traditionellen Güteparameter Sensitivität (SE), Spezifität (SP) und Receiver Operating Characteristic (ROC) berechnet. Mit dem CE-Index stand darüber

hinaus ein quantitatives Maß zur Verfügung, welches die traditionellen Parameter ergänzt.

Während die Berechnung der traditionellen Güteparameter (SE, SP, Az-Wert) von der Festlegung eines Grenzwertes abhängt, ermöglicht der CE-Index die Vergegenständlichung der Kariesprogression mit einem numerischen Wert. Daher können mit diesem Vorgehen diagnostische Einzel- oder Gruppenbefunde direkt mit dem CE-Index validiert werden.

Im Zuge der Auswertung wurden Mittelwert, Standardabweichung, Minimum- und Maximumwert des CE-Wertes für jedes ICDAS-Kriterium ermittelt. Die diagnostische Zuverlässigkeit von ICDAS wurde anhand der Berechnung der SE, SP, des positiven Vorhersagewertes (PPV), des negativen Vorhersagewertes (NPV) für die Kariesdetektionsstufen (D0 vs. D1-4 / CE-Index >0) als auch für die Dentinkariesdetektionsstufe (D0-2 vs. D3-4 / CE-Index >1.00) bestimmt.

Die diagnostische SE – auch Richtig-Positiv-Rate (engl. true positive rate, TP) genannt – bezeichnet die Wahrscheinlichkeit, einen tatsächlich positiven Sachverhalt auch durch ein positives Testergebnis zu erkennen. Dies gibt also den Anteil der richtig als positiv erkannten Sachverhalte an der Gesamtheit der in Wirklichkeit positiven Sachverhalte an. Im Bereich der Kariologie beschreibt die SE den Anteil der Zähne bzw. Zahnflächen, die sowohl mit dem Diagnostikverfahren als auch mit dem Referenzstandard korrekt als kariös bzw. erkrankt bezüglich der Läsionsprogression (D1-4 bzw. D3-4) eingestuft wurden (Tab. 5).

Tabelle 5: Vierfeldertafel zur Berechnung der Güteparameter SE, SP, PPV und NPV

		Referenzstandard		
		Karies - Nein	Karies - Ja	
Diagnostischer Test	Karies Nein	TN	FN	NPV = TN/ (TN+FN)
	Karies Ja	FP	TP	PPV = TP/ (TP+FP)
		SP = TN/ (FP+TN)	SE = TP/(TP+FN)	

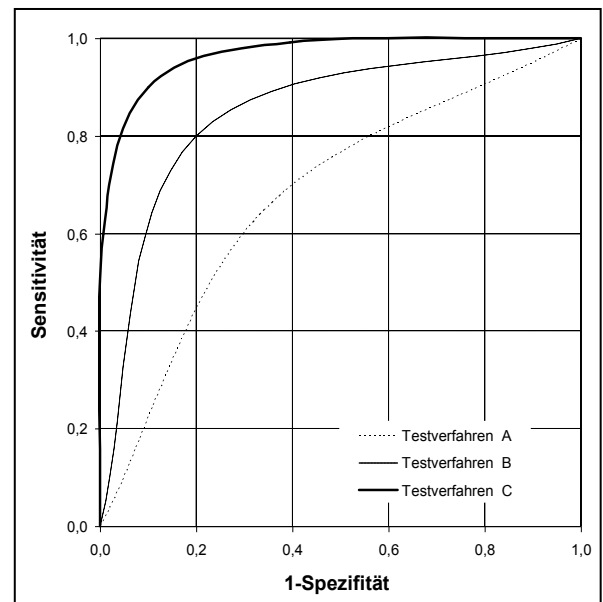
Erklärungen:

Richtig positiv, true positive (TP) – Der Test ist positiv und es liegt eine Erkrankung/Karies vor
 Richtig negativ, true negative (TN) – Der Test ist negativ und es liegt keine Erkrankung/Karies vor
 Falsch positiv, false positive (FP) – Der Test ist positiv, aber es liegt keine Erkrankung/Karies vor
 Falsch negativ, false negative (FN) – Der Test ist negativ, aber es liegt eine Erkrankung/Karies vor

Die diagnostische SP – auch Richtig-Negativ-Rate (engl. true negative rate, TN) genannt – bezeichnet die Wahrscheinlichkeit, einen tatsächlich negativen Sachverhalt auch durch ein negatives Testergebnis zu erkennen. Dies gibt also den Anteil der richtig als negativ erkannten Sachverhalte an der Gesamtheit der in Wirklichkeit negativen Sachverhalte an. Im Bereich der Kariologie beschreibt SP den Anteil der Zähne bzw. Zahnflächen, die sowohl mit dem Diagnostikverfahren als auch mit dem Referenzstandard korrekt als gesund (D0) bzw. gesund bezüglich der Läsionsprogression (D0-2) eingestuft wurden (Tab. 5). Ein diagnostischer Test kann dann als gut bewertet werden, wenn die summarische SE und SP 160% übersteigt [Hausen 1997].

Die Berechnung der SE und SP ist immer abhängig von zwei festzulegenden Grenzwerten (Cut-Off): zum einen, dem des Testverfahrens, zum anderen, dem des Referenzstandards. Demgegenüber hat die ROC-Kurve den Vorteil, unabhängig von einem definierten Grenzwert, eine Darstellung von SE und SP zu ermöglichen. Daher ist die ROC-Kurve geeignet, die Genauigkeit eines diagnostischen Tests zu analysieren. In der Regel wird jeder Messpunkt als Cut-Off-Wert verwendet und dafür SE und SP als Wertepaar für die ROC-Kurve berechnet. Aus allen Wertepaaren wird dann die ROC-Kurve konstruiert, wobei die SP entlang der Abszisse und die SE entlang der Ordinate eingetragen werden. Die Interpretation von ROC-Kurven (Abb. 21) wird wie folgt vorgenommen: Im Idealfall liegt die Kurve im Bereich der linken oberen Begrenzung des umschließenden Quadrates (Testverfahren C). Dies wäre gleichbedeutend mit einem großen Abstand der ROC-Kurve von der Diagonalen, welcher eine gute Trennschärfe bzw. Vorhersagekraft des Tests postuliert. Ein diagnostisches Testergebnis ohne jede Vorhersagekraft liegt im Bereich der Diagonalen (45-Grad-Linie). Als Maß für die Vorhersagekraft des Tests wird die Fläche unter der ROC-Kurve (Az-Wert) berechnet, die bei einem Test ohne jede Vorhersagekraft bei 0,5 und im Maximalfall bei 1 liegt. Ein akzeptables Testergebnis indizieren Werte $>0,75$ [Bühl und Zöfel 2000].

Abbildung 21: Beispiele für ROC-Kurven: Während das Testverfahren A über keine Vorhersage-kraft verfügt, sprechen die ROC-Kurven für die Testverfahren B bzw. C für eine akzeptable bzw. sehr gute Vorhersage-kraft [Kühnisch 2007c]



4. Ergebnisse

4.1. Probenmaterial

Von den insgesamt 206 untersuchten Zähnen wurden 196 in die Auswertung einbezogen. Bei drei Proben mussten Beschädigungen festgestellt werden und sieben klinisch gesunde Zähne wiesen bei der Auswertung der μ CT-Daten untypische Radioluzenzen auf (Abb. 22). Diese zeigten sich als scharf begrenzte Aufhellung direkt unterhalb der Schmelz-Dentin-Grenze und wiesen keine typischen Anzeichen einer Dentinläsion auf. Diese im μ CT festgestellten Befunde konnten auch unter dem Lichtmikroskop dokumentiert werden (Abb. 22). Da es sich bei dieser Beobachtung mit hoher Wahrscheinlichkeit nicht um einen kariösen Prozess, sondern um eine entwicklungsbedingte Mineralisationsstörung handelte, wurden die betroffenen Proben von allen weiteren Beobachtungen ausgeschlossen.

Letztlich wurden 196 Zähne mit 234 Punkten (Sites) in die folgenden Auswertungen eingeschlossen.

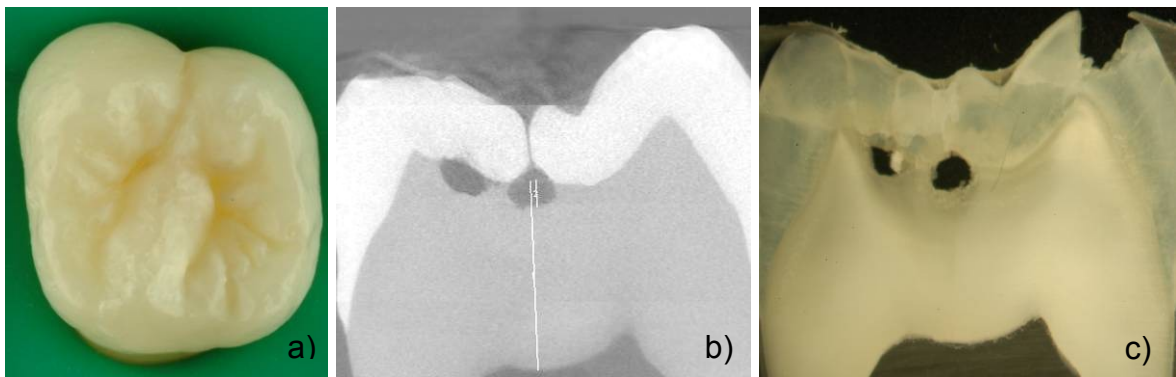


Abbildung 22: Beispiel für einen klinisch gesunden Zahn, der in dem μ CT (b) und im histologischen Schnittpräparat (c) eine untypische Radioluzenz aufweist

4.2. Vergleich der unterschiedlichen Validierungsmethoden

4.2.1. Mikrocomputertomografische Untersuchung

Die Kariesprogressionsstadien, welche mit dem μ CT erfasst wurden, sind in den Tabellen 6 und 7 dargestellt. Am häufigsten lag mit 51,3% die Karies in der äußeren Dentinhälfte vor. Es folgten Läsionen in der inneren Schmelzhälfte (24,8%) und der inneren Dentinhälfte (13,2%). Gesunde Flächen (5,1%) und solche mit einer Karies in der äußeren Schmelzhälfte (5,6%) kamen vergleichsweise selten vor. Wie in der Tabelle 6 aufgeführt, wurden mit dem μ CT für das D1-4-Niveau 222 der 234 untersuchten Sites (94,9%) als grundsätzlich kariös eingestuft. Wird das D3-4-Niveau betrachtet, so waren 151 der untersuchten Stellen (64,5%) von einer Dentinkaries betroffen. Wurden für die mikrocomputertomografische Validierung nicht wie oben beschrieben die Kriterien nach Marthaler [1966], sondern die nach Ekstrand et al. [1997] verwendet, zeigte sich die in der Tabelle 7 dargestellte Verteilung. Da bei Marthaler [1966] und Ekstrand et al. [1997] die Werte D0 und D1 gleich definiert sind, lagen demzufolge in diesen oberflächlichen Läsionen keine Unterschiede vor (Tab. 6 und 7). Ekstrand et al. [1997] hatten eine Kariesausdehnung bis in das äußere Dentindrittel als D2 definiert, deshalb machte diese Art der kariösen Läsion mit 62,0% den Hauptteil der Zahnhartsubstanzdefekte aus. An zweiter Stelle lagen Läsionen, welche das mittlere Dentindrittel erreicht hatten (22,6%) und zuletzt folgten mit 4,7% Läsionen im inneren Dentindrittel.

Darüber hinaus können der Tabelle 6 und 7 die Mittelwerte (\bar{x}) mit Standardabweichung (sd) sowie der Minimal- (min) und Maximalwert (max) des CE-Index für jeden Wert der histologischen Klassifikation nach Marthaler [1966] und Ekstrand et al. [1997] entnommen werden.

Tabelle 6: Verteilung aller untersuchten Punkte in Relation zur mikrocomputertomografisch bestimmten Kariesprogression nach Marthaler [1966]

Marthaler [1966]	N	%	CE-Index			
			x	sd	Min	Max
D0	12	5,1	0,00	0,00	0,00	0,00
D1	13	5,6	0,34	0,11	0,17	0,50
D2	58	24,8	0,85	0,13	0,51	1,00
D3	120	51,3	1,24	0,14	1,02	1,50
D4	31	13,2	1,64	0,09	1,51	1,94
Σ	234	100,0				

Tabelle 7: Verteilung aller untersuchten Punkte in Relation zur mikrocomputertomografisch bestimmten Kariesprogression nach Ekstrand et al. [1997]

Ekstrand et al. [1997]	N	%	CE-Index			
			x	sd	Min	Max
D0	12	5,1	0,00	0,00	0,00	0,00
D1	13	5,6	0,34	0,11	0,17	0,50
D2	145	62,0	1,04	0,19	0,51	1,33
D3	53	22,6	1,49	0,10	1,34	1,66
D4	11	4,7	1,73	0,09	1,68	1,94
Σ	234	100,0				

4.2.2. Lichtmikroskopische Untersuchung

Bei der Auswertung der konventionellen histologischen Schnitte mit dem Lichtmikroskop lagen ebenfalls am häufigsten kariöse Läsionen vor, welche sich bis in die äußere Dentinhälfte erstreckten (54,3%). Es folgten mit 22,6% D2-Läsionen und mit 12,4% Läsionen, die bis in die innere Dentinhälfte reichten. Kariöse Veränderungen der äußeren Schmelzhälfte lagen in 6,0% der Fälle vor und 4,7% der ausgewerteten Stellen waren gesund.

Insgesamt wurden auf dem D1-4-Niveau 95,3% (223 Flächen kariös) und auf dem D3-4-Niveau 66,7% (156 Flächen kariös) der Stellen als kariös eingestuft. Die Verteilung aller Untersuchungspunkte in Relation zur Kariesprogression kann der Tabelle 8 entnommen werden. Die Tabelle 9 gibt die Ergebnisse der lichtmikroskopischen Validierung unter Zuhilfenahme der histologischen Kriterien

nach Ekstrand et al. [1997] wieder. Die Werte für D0 und D1 waren wiederum mit denen nach Marthaler [1966] identisch. Wie im μ CT machten mit 61,5% D2-Läsionen den größten Teil der kariösen Defekte aus, gefolgt von D3- (22,2%) und D4-Läsionen (5,6%). Auch in den Tabellen 8 und 9 sind Mittelwert (x), Standardabweichung (sd), Minimal- (min) und Maximalwert (max) des aus den histologischen Schnitten ermittelten CE-Indexes angegeben.

Tabelle 8: Verteilung aller untersuchten Punkte in Relation zur lichtmikroskopisch bestimmten Kariesprogression nach Marthaler [1966]

Marthaler [1966]	N	%	CE-Index			
			x	sd	Min	Max
D0	11	4,7	0,00	0,00	0,00	0,00
D1	14	6,0	0,35	0,13	0,15	0,50
D2	53	22,6	0,85	0,14	0,54	0,99
D3	127	54,3	1,23	0,14	1,01	1,49
D4	29	12,4	1,65	0,11	1,51	1,95
Σ	234	100,0				

Tabelle 9: Verteilung aller untersuchten Punkte in Relation zur lichtmikroskopisch bestimmten Kariesprogression nach Ekstrand et al. [1997]

Ekstrand et al. [1997]	N	%	CE-Index			
			x	sd	Min	Max
D0	11	4,7	0,00	0,00	0,00	0,00
D1	14	6,0	0,35	0,13	0,15	0,50
D2	144	61,5	1,05	0,19	0,54	1,33
D3	52	22,2	1,46	0,09	1,34	1,66
D4	13	5,6	1,74	0,08	1,67	1,95
Σ	234	100,0				

4.2.3. Vergleich der Ergebnisse der Mikrocomputertomografie und des Lichtmikroskops

Die Tabelle 10 zeigt den Vergleich der beiden genutzten Validierungsmethoden anhand der histologischen Kriterien nach Marthaler [1966]. Insgesamt konnte in der vorliegenden Untersuchung in 90,2% der Fälle eine Übereinstimmung zwischen den beiden Validierungsmethoden festgestellt werden. Bei Betrachtung der Abweichungen (9,8%) gibt es keine Tendenz, die zur Annahme führen könnte, dass ein Verfahren kariöse Läsionen als weiter fortgeschritten einschätzt als das andere. Die Tabelle 11 gibt den Vergleich der beiden Validierungsmethoden mit der Klassifikation nach Ekstrand et al. [1997] wieder, bei dem eine Übereinstimmung von 88,9% festgestellt werden konnte.

Tabelle 10: Kreuztabelle der Ergebnisse der Klassifikation nach Marthaler [1966] für die μ CT und das Lichtmikroskop

Marthaler [1966]		μ CT					Σ
		0	D1	D2	D3	D4	
Licht- mikro- skop	D0	11					11
	D1	1	10	3			14
	D2		3	48	2		53
	D3			7	116	4	127
	D4				2	27	29
Σ		12	13	58	120	31	234

Tabelle 11: Kreuztabelle der Ergebnisse der Klassifikation nach Ekstrand et al. [1997] für die μ CT und das Lichtmikroskop

Ekstrand et al. [1997]		μ CT					Σ
		0	D1	D2	D3	D4	
Licht- mikro- skop	D0	11					11
	D1	1	10	3			14
	D2		3	136	5		144
	D3			6	43	3	52
	D4				5	8	13
Σ		12	13	145	53	11	234

In beiden Fällen konnte eine gute Übereinstimmung der verschiedenen Validierungsverfahren nachgewiesen werden (Tab. 10 und 11). Definitionsgemäß liegen bei der Einteilung nach Ekstrand et. al [1997] mehr D2-Läsionen bei einer gleichzeitig verminderten Anzahl von D3- und D4-Läsionen vor.

Die Abbildung 23 zeigt ein xy-Diagramm bei dem an der Abszisse die Werte des im μ CT ermittelten CE-Indexes aufgetragen wurden; die Ordinate zeigt den jeweils im Lichtmikroskop dokumentierten CE-Wert. Zu erkennen ist hier, dass es vor allem im Bereich der Schmelzkaries (0-0,99) zu Abweichungen der unterschiedlich ermittelten CE-Indizes von der Regressionsgeraden kam. Wohingegen für die Dentinläsionen eine gute Übereinstimmung registriert werden konnte. Der Korrelationskoeffizient nach Pearson betrug für die im Lichtmikroskop und im μ CT mit Hilfe des CE-Indexes ermittelte Läsionsausdehnung $r=0,96$ bei einer Signifikanz von 0,01 (Korrelation ist hoch signifikant). Auch die Steigung der Geraden betrug 0,96 und reflektiert eine nahezu vollständige Übereinstimmung.

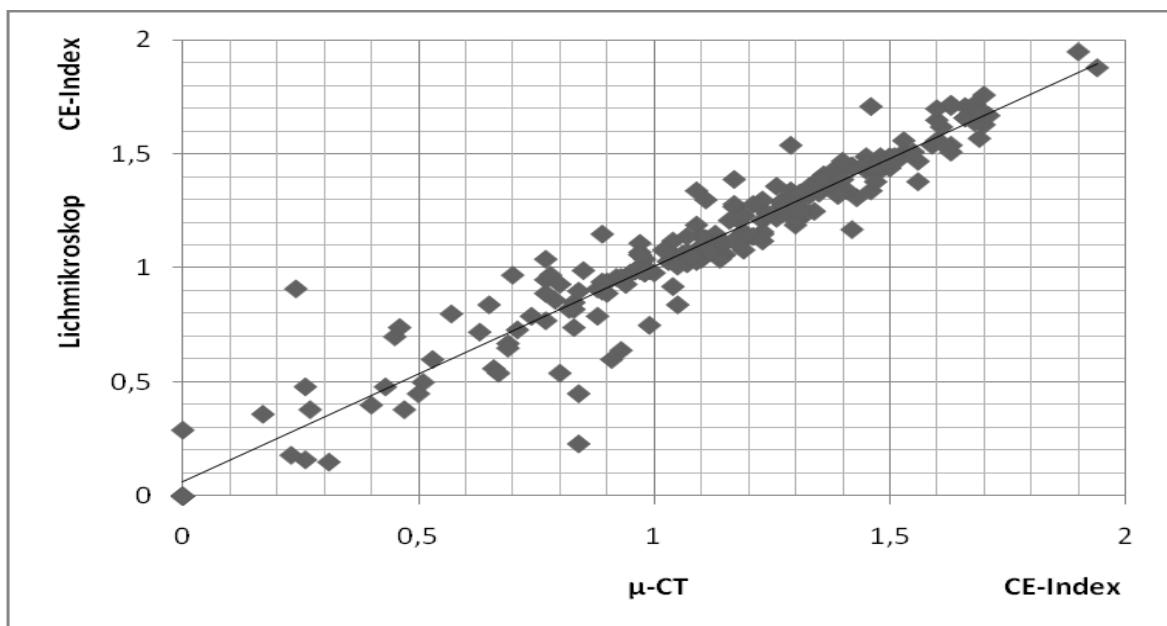


Abbildung 23: xy-Diagramm für den CE-Wert der im μ CT und der Lichtmikroskopie festgestellten Schmelz- und Dentinläsionen

4.3. Einfluss der Quantifizierung der Kariesextension auf die Validität der Diagnostikmethode

4.3.1. Semiquantitative Methodik

In der Tabelle 12 sind die im μ CT ermittelten Ergebnisse der Kariesklassifikation nach Marthaler [1966] den zuvor klinisch festgelegten ICDAS-Kriterien gegenübergestellt. Abzuleiten ist hier, dass bei dem ICDAS-Score 1 in etwa der Hälfte aller Fälle eine Schmelzkaries vorlag, wohingegen bei der anderen Hälfte der untersuchten Zähne eine Dentinkaries diagnostiziert wurde. Für das ICDAS Kriterium 2 wurde in 87% der Fälle eine Dentinkaries ermittelt. Bei den ICDAS-Kriterien 3-6 wurde nahezu immer eine bis in das Dentin reichende Karies festgestellt. Die vorgenannten Befunde, welche mit dem μ CT validiert wurden, finden sich in grundsätzlicher Übereinstimmung zu denen, welche im Rahmen der lichtmikroskopischen Probenaufbereitung erfasst wurden. Letztere können der Tabelle 13 entnommen werden.

In den Tabellen 14 und 15 sind die Ergebnisse der beiden Validierungsmethoden unter Verwendung der histologischen Kariesklassifikation nach Ekstrand et al. [1997] angegeben. Aufgrund der nach Ekstrand et al. [1997] anders definierten Karieseinteilung liegt hier ein Übergewicht an D2 Läsionen vor. Dies verdeutlicht, dass bei der Verwendung einer anderen histologischen Karieseinteilung folglich unterschiedliche Ergebnisse erzielt werden.

Tabelle 12: Kreuztabelle der ICDAS-Kriterien und der Ergebnisse der D-Klassifikation nach Marthaler [1966] aus der mikrocomputertomografischen Untersuchung

μCT		Karieseseinteilung nach Marthaler [1966]				Gesamt N(%)
		0 N(%)	D1/2 N(%)	D3 N(%)	D4 N(%)	
ICDAS	0	11 (27,5)	26 (65,0)	3 (7,5)	0	40(100)
	1	1 (1,5)	32 (48,5)	33 (50,0)	0	66(100)
	2		11 (12,8)	63 (73,2)	12 (14,0)	86(100)
	3		2 (8,0)	13 (52,0)	10 (40,0)	25(100)
	4			1 (50,0)	1 (50,0)	2(100)
	5			6 (66,7)	3 (33,3)	9(100)
	6			1 (16,7)	5 (83,3)	6(100)
Σ		12	71	120	31	234

Tabelle 13: Kreuztabelle der ICDAS-Kriterien und der Ergebnisse der D-Klassifikation nach Marthaler [1966] aus der lichtmikroskopischen Untersuchung

Licht- mikroskop	Karieseinteilung nach Marthaler [1966]				Gesamt N(%)	
	0 N(%)	D1/2 N(%)	D3 N(%)	D4 N(%)		
ICDAS	0	10 (25,0)	23 (57,0)	7 (17,5)	0	40(100)
	1	1 (1,5)	32 (48,5)	33 (50,0)	0	66(100)
	2		10 (11,6)	65 (75,6)	11 (12,8)	86(100)
	3		2 (8,0)	14 (56,0)	9 (36,0)	25(100)
	4			1 (50,0)	1 (50,0)	2(100)
	5			6 (66,7)	3 (33,3)	9(100)
	6			1 (16,7)	5 (83,3)	6(100)
Σ	11	67	127	29	234	

Tabelle 14: Kreuztabelle der ICDAS-Kriterien und der Ergebnisse der D-Klassifikation nach Ekstrand et al. [1997] aus der mikrocomputertomografischen Untersuchung

μ CT	Karieseinteilung nach Ekstrand et al. [1997]				Gesamt N(%)
	0 N(%)	D1/2 N(%)	D3 N(%)	D4 N(%)	
ICDAS	0	11 (27,5)	29 (72,5)	0 (0,00)	40(100)
	1	1 (1,5)	60 (90,9)	5 (7,6)	66(100)
	2		57 (66,3)	27 (31,4)	86(100)
	3		8 (32,0)	14 (56,0)	25(100)
	4		1 (50,0)	1 (50,0)	2(100)
	5		2 (22,2)	5 (55,6)	9(100)
	6		1 (16,7)	1 (16,7)	4 (66,6)
Σ		12	158	53	11
					234

Tabelle 15: Kreuztabelle der ICDAS-Kriterien und der Ergebnisse der D-Klassifikation nach Ekstrand et al. [1997] aus der lichtmikroskopischen Untersuchung

Licht- mikroskop	Karieseinteilung nach Ekstrand et al. [1997]				Gesamt N(%)
	0 N(%)	D1/2 N(%)	D3 N(%)	D4 N(%)	
ICDAS	0	10 (25,0)	30 (75,0)	0 (0,00)	40(100)
	1	1 (1,5)	60 (90,9)	5 (7,6)	66(100)
	2		54 (62,8)	29 (33,7)	86(100)
	3		10 (40,0)	12 (48,0)	25(100)
	4		1 (50,0)	1 (50,0)	2(100)
	5		2 (22,2)	4 (44,4)	3 (33,3)
	6		1 (16,7)	1 (16,7)	4 (66,7)
Σ		11	158	52	13
					234

4.3.2. Quantitative Methodik

Weiterführend erfolgte die Quantifizierung der Kariesextension in Abhängigkeit des visuellen Befundes. Die Tabelle 16 zeigt dabei die anhand der mikrocomputertomografischen und lichtmikroskopischen Bilder berechneten Mittelwerte, die Standardabweichung (sd), den Minimal- (min) sowie den Maximalwert (max) des CE-Indexes für jedes ICDAS-Kriterium. Während die Kriterien 0 und 1 im Durchschnitt mit Läsionen des Zahnschmelzes assoziiert waren, wurden die Kriterien 2-6 ausschließlich im Dentin aufgefunden. Allerdings sind hier einige wenige Ausnahmen zu berücksichtigen. Außerdem geht aus Tabelle 16 hervor, dass die berechneten Werte des μ CTs und die des Lichtmikroskops eine sehr gute Übereinstimmung zeigten.

Tabelle 16: Durchschnittswerte des CE-Indexes aus der mikrocomputertomografischen und der lichtmikroskopischen Auswertung für das jeweilige ICDAS-Kriterium

ICDAS	CE-Index im μ CT				CE-Index im Lichtmikroskop			
	Mittel	Sd	Min	max	Mittel	Sd	Min	max
0	0,58	0,41	0,00	1,13	0,59	0,42	0,00	1,12
1	0,95	0,34	0,00	1,50	0,96	0,32	0,00	1,44
2	1,24	0,25	0,40	1,71	1,24	0,24	0,40	1,71
3	1,40	0,25	0,89	1,70	1,38	0,25	0,90	1,76
4	1,43	0,33	1,19	1,66	1,45	0,30	1,23	1,66
5	1,45	0,19	1,10	1,68	1,44	0,22	1,04	1,72
6	1,68	0,25	1,23	1,94	1,67	0,28	1,16	1,95

4.3.3. Validierung der ICDAS-Kriterien

In den folgenden Tabellen ist die Validierung der ICDAS-Kriterien sowohl für das Niveau der Kariesdetektion (D0 vs. D1-4) als auch für das Erkennen einer Dentinkaries (D0-2 vs. D3-4) in Abhängigkeit des jeweiligen Validierungsverfahrens (μ CT vs. Lichtmikroskop, Marthaler vs. Ekstrand) und unterschiedlicher Grenzwerte dargestellt. Da die Karieseinteilung nach Marthaler und Ekstrand für die Werte D0 (gesund) und D1 (Karies in der äußeren Schmelzhälfte) identisch ist, stimmten folglich die hier ermittelten Parameter für

die Kariesdetektion (D0 vs. D1-D4) überein, so dass auf eine separate Darstellung der Tabellen 17 und 18 verzichtet werden konnte. Für das Kariesdetektionsniveau wurde eine Sensitivität von 86,9% bzw. 86,5% und eine Spezifität von 91,7% bzw. 90,9% bei Verwendung des μ CTs bzw. der konventionellen histologischen Aufbereitung registriert. Der Az-Wert für das Kariesdetektionsniveau beträgt für die Untersuchung mittels μ CT 0,92 und für die lichtmikroskopische Untersuchung 0,91 (Tab 17 und 18). In den Tabellen 17 bis 22 ist die Zeile mit der für das jeweilige Kariesdetektionsniveau entscheidenden Grenzwertziehung zwischen den ICDAS-Kriterien grau hinterlegt. Im Fall der Kariesdetektion befindet sich die Grenzwertziehung zwischen den ICDAS-Kriterien 0 und 1, bei der Dentinkariesdetektion kann ab dem Kriterium 3 eine invasive Therapie nötig sein [ICDAS Foundation 2008].

Tabelle 17: Diagnostische Güteparameter für die ICDAS-Kriterien nach Validierung mit dem μ CT und den Kriterien nach *Marthaler [1966]* und *Ekstrand et al. [1997]* bei unterschiedlicher Grenzwertziehung für die Kariesdetektion (D1-4)

Kariesdetektion (D0 versus D1-4)					
Grenzwert- ziehung ICDAS	SE (%)	SP (%)	PPV (%)	NPV (%)	AZ
0/1,2,3,4,5,6	86,9	91,7	99,5	27,5	0,92
0,1/2,3,4,5,6	57,7	100,0	100,0	11,3	
0,1,2/3,4,5,6	18,9	100,0	100,0	6,3	
0,1,2,3/4,5,6	7,7	100,0	100,0	5,5	

Tabelle 18: Diagnostische Güteparameter für die ICDAS-Kriterien nach Validierung mit dem *Lichtmikroskop* und den Kriterien nach *Marthaler [1966]* und *Ekstrand et al. [1997]* bei unterschiedlicher Grenzwertziehung für die Kariesdetektion (D1-4)

Kariesdetektion (D0 versus D1-4)					
Grenzwert- ziehung ICDAS	SE (%)	SP (%)	PPV (%)	NPV (%)	AZ
0/1,2,3,4,5,6	86,5	90,9	99,5	25,0	0,91
0,1/2,3,4,5,6	57,4	100,0	100,0	5,1	
0,1,2/3,4,5,6	18,8	100,0	100,0	5,7	
0,1,2,3/4,5,6	7,6	100,0	100,0	5,1	

Tabelle 19: Diagnostische Güteparameter für die ICDAS-Kriterien nach Validierung mit dem μCT und den Kriterien nach *Marthaler [1966]* bei unterschiedlicher Grenzwertziehung für das Dentinkariesniveau (D3-4)

Dentinkariesdetektion (D0-2 versus D3-4)					
Grenzwert- ziehung ICDAS	SE (%)	SP (%)	PPV (%)	NPV (%)	AZ
0/1,2,3,4,5,6	98,0	44,6	76,3	92,5	0,79
0,1/2,3,4,5,6	76,2	84,3	89,8	66,0	
0,1,2/3,4,5,6	26,5	97,6	95,2	42,2	
0,1,2,3/4,5,6	11,2	100,0	100,0	38,2	

Tabelle 20: Diagnostische Güteparameter für die ICDAS-Kriterien nach Validierung mit dem μCT und den Kriterien nach *Ekstrand et al. [1997]* bei unterschiedlicher Grenzwertziehung für die Dentinkariesniveau (D3-4)

Dentinkariesdetektion (D0-2 versus D3-4)					
Grenzwert- ziehung ICDAS	SE (%)	SP (%)	PPV (%)	NPV (%)	AZ
0/1,2,3,4,5,6	100,0	23,5	33,0	100,0	0,71
0,1/2,3,4,5,6	92,2	59,4	46,1	95,3	
0,1,2/3,4,5,6	46,9	92,9	71,4	82,3	
0,1,2,3/4,5,6	20,3	97,6	76,5	76,5	

Tabelle 21: Diagnostische Güteparameter für die ICDAS-Kriterien nach Validierung mit dem *Lichtmikroskop* und den histologischen Kriterien nach *Marthaler [1966]* bei unterschiedlicher Grenzwertziehung für das Dentinkariesniveau (D3-4)

Dentinkariesdetektion (D0-2 versus D3-4)					
Grenzwert- ziehung ICDAS	SE (%)	SP (%)	PPV (%)	NPV (%)	AZ
0/1,2,3,4,5,6	95,5	42,3	76,8	82,5	0,78
0,1/2,3,4,5,6	74,4	84,6	90,6	62,3	
0,1,2/3,4,5,6	25,6	97,4	95,2	39,6	
0,1,2,3/4,5,6	10,9	100,0	100,0	35,9	

Tabelle 22: Diagnostische Güteparameter für die ICDAS-Kriterien nach Validierung mit dem *Lichtmikroskop* und den histologischen Kriterien nach *Ekstrand et al. [1997]* bei unterschiedlicher Grenzwertziehung für das Dentinkariesniveau (D3-4)

Dentinkariesdetektion (D0-2 versus D3-4)					
Grenzwert- ziehung ICDAS	SE (%)	SP (%)	PPV (%)	NPV (%)	AZ
0/1,2,3,4,5,6	100,0	23,7	33,5	100,0	0,71
0,1/2,3,4,5,6	92,3	59,8	46,9	95,3	
0,1,2/3,4,5,6	43,1	91,7	66,7	80,7	
0,1,2,3/4,5,6	20	97,6	76,5	76,0	

Der Vergleich der Daten aus der Validierung mit den Kriterien nach Marthaler und denen nach Ekstrand zeigte, dass die Untersuchungsergebnisse bei einer identischen Grenzwertziehung zwischen den ICDAS-Kriterien von der angewandten Methodik abhängig sind. So ergab sich für die Validierung der ICDAS-Kriterien auf dem Dentinkariesniveau mit dem μ CT und den Kriterien nach Marthaler [1966] eine SE von 26,5% und eine SP von 97,6% (Tab. 19). Wurden für dasselbe Vorgehen die Kriterien nach Ekstrand et al. [1997] herangezogen, so belief sich die SE auf 46,9% und die SP auf 92,9% (Tab. 20). Diese Abweichungen wurden für alle Vergleiche zwischen dem μ CT und der lichtmikroskopischen Untersuchung bzw. den unterschiedlichen semiquantitativen Ansätzen deutlich (Tab. 19/20, 21/22). So ergab sich für die Validierung der

ICDAS-Kriterien auf dem Dentinkariesniveau mit dem Lichtmikroskop und den Kriterien nach Marthaler [1966] eine SE von 25,6% und eine SP von 97,4% (Tab.21), während für dasselbe Vorgehen mit den Kriterien nach Ekstrand et al. [1997] eine SE von 43,1% und eine SP von 91,7% erreicht wurde (Tab. 22).

4.4. Auftreten markanter histologischer Merkmale

4.4.1. Erfassung unterschiedlicher Demineralisationsgrade mit der Mikrocomputertomografie

Die Tabelle 23 zeigt die Häufigkeit des Auftretens eines Grau- bzw. Schwarzwertes im μ CT in Relation zum jeweiligen ICDAS-Kriterium. Wobei sich der Grauwert aus der Zone der Nekrose und der Zone der Demineralisation zusammensetzt und der Schwarzwert der Zone der Nekrose entspricht. Es wurden nur Läsionen berücksichtigt die in ihrer Ausdehnung die Schmelz-Dentin-Grenze in Richtung Pulpa überschritten haben (D3-4 Niveau). Eine Dentinbeteiligung war an 151 Stellen zu beobachten, bei welchen in 80,1% (121 Stellen) der Fälle ein Schwarzwert vorlag.

Der Tabelle 24 kann der Mittelwert (x) mit Standardabweichung (sd) sowie der Minimal- (min) und Maximalwert (max) des CE-Indexes der Schwarzwerte und der entsprechenden Grauwerte für jedes ICDAS-Kriterium entnommen werden. Für die Berechnungen wurden nur Punkte mit einem vorhandenen Schwarzwert herangezogen.

Tabelle 23: Häufigkeit des Auftretens eines Schwarzwertes und eines Grauwertes im Dentin bei mikrocomputertomografisch festgestellten kariösen Läsionen in Abhängigkeit der ICDAS-Kriterien

ICDAS Score	N	Schwarzwert				Grauwert			
		ja	%	nein	%	ja	%	nein	%
0	40	1	2,5	39	97,5	3	7,5	37	92,5
1	66	21	31,8	45	68,2	33	50,0	33	50,0
2	86	62	72,1	24	27,9	75	87,2	11	12,8
3	25	20	80,0	5	20,0	23	92,0	2	8,0
4	2	2	100,0	--	--	2	100,0	--	--
5	9	9	100,0	--	--	9	100,0	--	--
6	6	6	100,0	--	--	6	100,0	--	--
Σ	234	121	51,7	113	48,3	151	94,9	83	5,1

Tabelle 24: Quantifizierung des Schwarz- und Grauwertes in mikrocomputertomografisch validierten Dentinläsionen mit Hilfe des CE-Indexes (in die Auswertung wurden nur Punkte mit einem festgestellten Schwarzwert einbezogen)

ICDAS Score	N	Sites mit Schwarzwert (Σ/%)	Schwarzwert				Grauwert			
			x	sd	Min	Max	x	sd	Min	Max
0	40	1 (2,5)	--	--	1,03	1,03	--	--	1,13	1,13
1	66	21 (31,8)	1,10	0,08	1,01	1,28	1,26	0,12	1,08	1,50
2	86	62 (72,1)	1,14	0,09	1,02	1,43	1,34	0,17	1,02	1,71
3	25	20 (80,0)	1,22	0,13	1,02	1,49	1,49	0,18	1,15	1,70
4	2	2 (100)	1,21	0,17	1,09	1,33	1,43	0,33	1,19	1,66
5	9	9 (100)	1,23	0,15	1,02	1,41	1,45	0,19	1,10	1,68
6	6	6 (100)	1,44	0,23	1,12	1,82	1,68	0,25	1,23	1,94
Σ	234	121 (51,7)	1,16	0,13	1,01	1,82	1,37	0,20	1,02	1,94

4.4.2. Erfassung unterschiedlicher Demineralisationsgrade mit der konventionellen histologischen Methode

In der Tabelle 25 sind die im Lichtmikroskop festgestellten Veränderungen des Dentins aufgeführt. Die Spalte „Dentinverfärbung“ beschreibt die Gesamttiefe einer vorhandenen Dentinkaries. Sofern eine Zone der Transluzenz festgestellt werden konnte, wurde diese mit dem CE-Index, in Analogie zur Vermessung einer Dentinläsion bestimmt. Bei insgesamt 84,6% der untersuchten Stellen wurde bei einer vorhandenen Dentinläsion auch eine Zone der Transluzenz identifiziert. Die Zone der Nekrose (deutlich dunkler verfärbtes Dentin an der Läsionsoberfläche) wurde ebenfalls analog dem CE-Index quantifiziert und konnte in 70,5% aller untersuchten Stellen mit einer Dentinkaries festgestellt werden.

Tabelle 25: Häufigkeit des Auftretens einer Zone der Nekrose, einer Dentinverfärbung und einer Zone der Transluzenz im Lichtmikroskop in Abhängigkeit der ICDAS-Kriterien

ICDAS	N	Zone der Nekrose		Dentinverfärbung		Zone der Transluzenz	
		Ja n(%)	nein n(%)	ja n(%)	nein n(%)	ja n(%)	nein n(%)
0	40	--	40(100,0)	7(17,5)	33(82,5)	5(12,5)	35(87,5)
1	66	18(27,3)	48(72,7)	33(50,0)	33(50,0)	29(43,9)	37(56,1)
2	86	57(66,3)	29(33,7)	76(88,4)	10(11,6)	61(70,9)	25(29,1)
3	25	21(84,0)	4(16,0)	23(92,0)	2(8,0)	21(84,0)	4(16,0)
4	2	2(100,0)	--	2(100,0)	--	2(100,0)	--
5	9	9(100,0)	--	9(100,0)	--	9(100,0)	--
6	6	6(100,0)	--	6(100,0)	--	5(83,3)	1(16,7)
Σ	234	112(47,9)	122(52,1)	156(66,7)	78(33,3)	132(56,4)	102(43,6)

In der Tabelle 26 ist der Mittelwert (x) mit Standardabweichung (sd), der Minimal- (min) und Maximalwert (max) des CE-Indexes der Zone der Nekrose sowie der dazugehörigen Dentinverfärbung für jedes ICDAS-Kriterium aufgeführt. Bei der Zone der Nekrose handelt es sich um einen abgegrenzten, dunkelbraun verfärbten Bereich der sich von der Schmelz-Dentin-Grenze bis zum weniger stark verfärbten Dentin erstreckte. Die Dentinverfärbung entsprach der Zone der Demineralisation. Diese erstreckte sich von der Schmelz-Dentin-Grenze bis zum Beginn der Zone der Transluzenz, bzw. falls diese nicht vorhanden war, bis zum nicht mehr farblich

veränderten Dentin. Sie beinhaltete die Zone der Nekrose (Abb. 20). In die Berechnungen wurden nur die Stellen einbezogen, bei denen auch tatsächlich eine Zone der Nekrose vorlag.

In der Tabelle 27 sind die jeweiligen Werte des CE-Indexes für die Zone der Transluzenz angegeben.

Tabelle 26: Quantifizierung der Zone der Nekrose und die damit verbundene Dentinverfärbung in lichtmikroskopisch validierten Dentinläsionen mit Hilfe des CE-Indexes (in die Auswertung wurden nur Punkte mit einer festgestellten Zone der Nekrose einbezogen)

ICDAS	N	N Sites Nekrose	Nekrose				Dentinverfärbung			
			x	sd	Min	Max	x	sd	Min	Max
0	40	0	--	--	--	--	--	--	--	--
1	66	18	1,07	0,04	1,03	1,16	1,26	0,11	1,10	1,44
2	86	57	1,09	0,06	1,01	1,34	1,35	0,16	1,07	1,71
3	25	21	1,13	0,06	1,04	1,26	1,45	0,19	1,11	1,76
4	2	2	1,12	0,08	1,06	1,18	1,45	0,30	1,23	1,66
5	9	9	1,17	0,13	1,01	1,38	1,44	0,22	1,04	1,72
6	6	6	1,34	0,17	1,08	1,56	1,67	0,28	1,16	1,95
Σ	234	112	1,12	0,09	1,01	1,56	1,38	0,20	1,04	1,95

Tabelle 27: Mittelwert, Standardabweichung Minimal- und Maximalwert des CE-Indexes für die im Lichtmikroskop ermittelte Zone der Transluzenz und die Dentinverfärbung (nur für die Punkte, bei denen eine transluzente Zone festgestellt werden konnte)

ICDAS	N	N Sites Transluzenz	Transluzenz				Dentinverfärbung			
			x	sd	Min	Max	x	sd	Min	Max
0	40	5	1,40	0,17	1,21	1,59	1,07	0,03	1,04	1,12
1	66	29	1,44	0,16	1,15	1,74	1,19	0,12	1,03	1,44
2	86	61	1,60	0,15	1,19	1,92	1,32	0,18	1,01	1,71
3	25	21	1,68	0,18	1,28	1,94	1,44	0,21	1,02	1,76
4	2	2	1,85	0,19	1,72	1,98	1,45	0,30	1,23	1,66
5	9	9	1,74	0,17	1,43	1,95	1,44	0,22	1,04	1,72
6	6	5	1,83	0,19	1,53	1,99	1,62	0,27	1,16	1,88
Σ	234	132	1,59	0,19	1,15	1,99	1,32	0,21	1,01	1,88

Die Abbildung 24 zeigt ein xy-Diagramm bei dem an der Abszisse der CE-Index des im μ CT ermittelten Schwarzwertes und an der Ordinate die entsprechenden Werte für die Zone der Nekrose (Lichtmikroskop) eingetragen sind. In einigen Fällen konnte das Vorkommen einer entsprechenden Läsion nur in einem der beiden Validierungsverfahren nachgewiesen werden, was die Punkte auf der Abszisse bzw. Ordinate erklärt. Konnten in beiden Verfahren entsprechende Veränderungen festgestellt werden, so ist hier eine zufriedenstellende Übereinstimmung zu erkennen. Da ein Schwarzwert bzw. eine Zone der Nekrose nur im Dentin festgestellt werden konnte, ist der CE-Wert immer 0 oder größer 1. Fünfmal konnte im μ CT keine Zone der Nekrose ausgemacht werden, wohingegen im Lichtmikroskop eine selbige vorlag. In 13 Fällen verhielt es sich umgekehrt. 108-mal wurde übereinstimmend weder im μ CT noch im Lichtmikroskop eine Zone der Nekrose festgestellt.

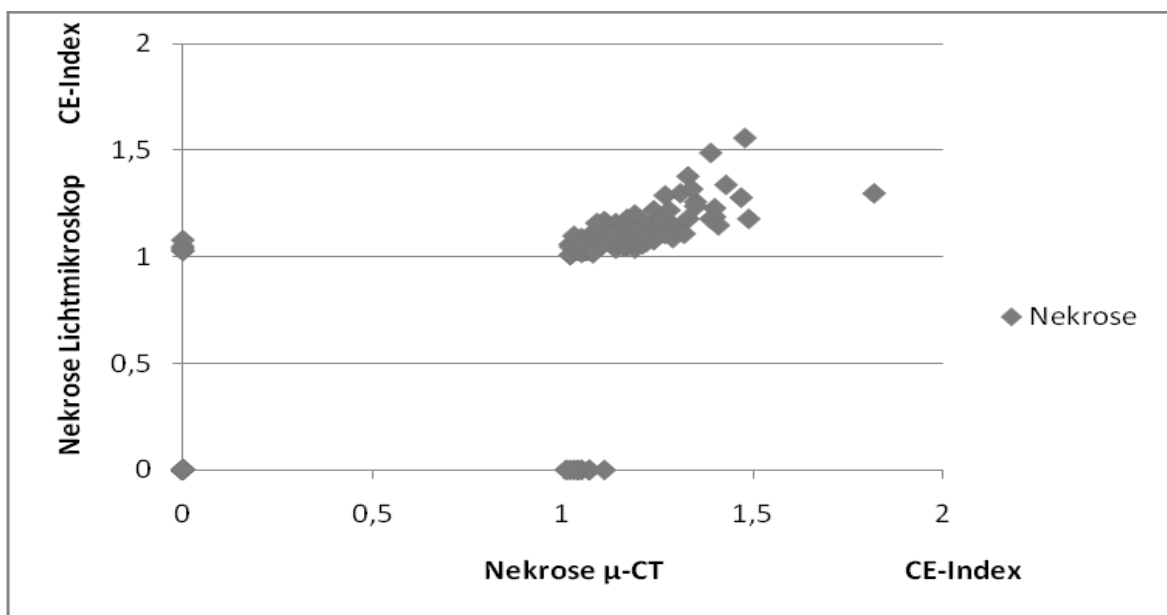


Abbildung 24: xy-Diagramm für die im Lichtmikroskop und im μ CT ermittelte Zone der Nekrose

5. Diskussion

5.1. Studiendesign

Bei der vorliegenden Untersuchung wurden insgesamt 196 humane dritte Molaren mit 234 Sites untersucht. Lediglich eine Minderheit an Studien nutzte in der Vergangenheit eine ähnlich hohe Probenzahl [Diniz et al. 2009b, Jablonski-Momeni et al. 2009b]. Zudem wurden im Besonderen Zähne berücksichtigt, welche nicht kavitierte Läsionen aufwiesen (155 Zähne mit 192 Sites), da der Zahnarzt vor allem bei diesen mit dem diagnostischen Problem der ‚hidden caries‘ konfrontiert ist [Zadik und Bechor 2009]. Neben dem Alleinstellungsmerkmal eines umfangreichen Probenmaterials wurde in der vorliegenden Untersuchung erstmals das μ CT neben der konventionellen histologischen Aufbereitung (Zahnschnitte, Stereomikroskop) eingesetzt.

Da das μ CT bisher für die Validierung von Methoden zur Okklusalkariesdiagnostik noch nicht eingesetzt wurde, widmete sich die vorliegende Arbeit zuerst der grundlegenden Fragestellung nach der Vergleichbarkeit des Verfahrens mit der konventionellen histologischen Aufbereitung. Um die beiden Validierungsansätze vergleichend bewerten zu können, war es wichtig, in beiden Verfahren die identischen Schnittebenen aufzusuchen. Dies erwies sich als Herausforderung, da bei dem konventionellen Verfahren während des Trennvorgangs Zahnhartsubstanz verloren geht. Außerdem ist ein absolut identischer Schnitt im μ CT und in der konventionellen Histologie kaum zu generieren, da die Zahnkronen in allen Ebenen des Raumes gekippt sein können. So kann an dieser Stelle der Untersuchung eine gewisse Ungenauigkeit nicht ausgeschlossen werden. Um dieses Problem zu minimieren wurde bei der Auswahl der Schnittebenen auf das Vorhandensein von mehreren identischen anatomischen Merkmalen des Zahnes besonderer Wert gelegt.

Zur Quantifizierung der in den Validierungsmethoden festgestellten Kariesausdehnung fand der CE-Index [Kühnisch 2010] erstmals bei einer Studie mit einer so hohen Probenanzahl Verwendung. Dies stellt ein weiteres Alleinstellungsmerkmal der vorliegenden Untersuchung dar.

Als kritischer Punkt ist zu bemerken, dass die Auswertung der Kariesausdehnung an den errechneten microcomputertomografischen Schnittbildern (Tab. 6 und 7) einer gewissen Subjektivität unterliegt. Als schwierig gestaltete sich, die verschiedenen Nuancen der Grauwertveränderung und somit die

Kariesprogression eindeutig zu erkennen. Im Fall der Schwarzwertbestimmung war dies meist noch diffiziler. Um hier Fehlinterpretationen zu vermeiden, wurde zur Bestimmung der Ausdehnung einer kariösen Läsion bei allen Proben eine Konsentsentscheidung von drei Untersuchern getroffen. Zudem muss angemerkt werden, dass bei der Bestimmung des Schwarzwertes im μ CT sehr sensitiv vorgegangen wurde. In zukünftigen, vergleichbaren Studien sollte dieser Schritt optimaler Weise mit Hilfe einer Computersoftware objektiviert werden. Damit könnte anhand zuvor ermittelter Grenzwerte eine Berechnung der Grau- und Schwarzwertveränderungen und somit eine objektive Bewertung der Kariesausdehnung durchgeführt werden.

Weiterhin bleiben in diesem Zusammenhang die verschiedenen Grenzwerte (Cut-Offs) für die Berechnung der Güteparameter zu diskutieren. So sind die Grenzwerte für die Kariesdetektion (D1-D4) und das Dentinkariesniveau (D3-D4) weitgehend anerkannt. Für den Zahnarzt ist allerdings der Grenzwert von Bedeutung, welcher die invasive Behandlungsbedürftigkeit einer kariösen Läsion indiziert. Dies begründet sich vor allem aus einer geänderten Auffassung zur Therapie des kariösen Prozesses, wonach ein invasives Vorgehen nicht mehr allein mit dem bloßen Vorhandensein einer Dentinkaries begründet werden kann [Ricketts und Pitts 2009]. Als Parameter werden heute vielmehr auch die Aktivität der Läsion [Braga et al. 2009], das Vorhandensein einer Kavitation, sowie das allgemeine Kariesrisiko als ausschlaggebend angesehen. Daher ist heute das Belassen einer Dentinkaries im Bereich der Schmelz-Dentin-Grenze prinzipiell akzeptiert. Allerdings gibt es aktuell wenige Informationen, ab welchem Progressionsstadium ein invasives Vorgehen indiziert ist [Ricketts und Pitts 2009]. Nach Ricketts et al. [1995b und 2002] ist dies bei der Okklusalkaries erst dann nötig, wenn die kariöse Läsion so ausgeprägt ist, dass sie im Röntgenbild sichtbar ist. Diese Situation geht mit einer ausgeprägten mikrobiologischen Besiedlung einher.

Der in der Abbildung 22 dargestellte Zufallsbefund wurde bisher noch nicht beschrieben. Hier handelt es sich um klinisch gesund erscheinende Zähne, welche allerdings in der mikrocomputertomografischen und der histologischen Untersuchung einen Defekt aufwiesen. Würden diese Zähne lediglich mit der konventionellen histologischen Methode untersucht, so könnte angenommen werden, dass der Defekt während des Prozesses der Probenaufbereitung

entstanden sein könnte. Da diese Anomalie aber bereits im μ CT auftrat, konnte eine untersuchungsbedingte Beschädigung ausgeschlossen werden. Da zudem keine Anzeichen einer kariösen Genese vorlagen, ist davon auszugehen, dass es sich bei diesem Phänomen mit hoher Wahrscheinlichkeit um eine entwicklungsbedingte Mineralisationsstörung handelt.

5.2. Vergleich der genutzten Validierungsansätze

Jede Methode zur Kariesdiagnostik sollte im Idealfall in der Lage sein, den kariösen Prozess der Zahnhartsubstanz korrekt zu erkennen und präzise zu quantifizieren. Um einen diagnostischen Test auf seine Richtigkeit zu überprüfen, ist es erforderlich das System zu validieren. Dies wird mit Hilfe eines so genannten Referenzstandards durchgeführt.

In der vorliegenden Arbeit wurde zur Überprüfung der Okklusalkariesdiagnostik erstmals das μ CT genutzt. Der Ablauf der Untersuchung des Probenmaterials mit dem μ CT stellte sich einfach dar. Im Vergleich zur konventionellen Methode entfiel die Probenaufbereitung vor der Visualisierung und damit auch sämtliche oben beschriebenen Fehlerquellen. Ein bislang nicht genannter Vorteil des μ CTs ist, dass es sich etwas einfacher gestaltete, eine zuvor an der Okklusalfäche beurteilte Stelle auch tatsächlich im Schnittbild zu beurteilen. Der Grund hierfür liegt darin, dass mit dem μ CT-Datensatz ein Drehen oder Kippen der Schnittebenen jederzeit möglich war. Dies stellte sich bei der Untersuchung mit dem Lichtmikroskop als schwieriger heraus, da die einmal angefertigten Probenschnitte nicht mehr verändert werden konnten. Die im μ CT ermittelte Ausdehnung der kariösen Läsionen ist den Tabellen 6 und 7 zu entnehmen.

Bislang existiert keine Untersuchung, welche eine Methode für die Okklusalkariesdiagnostik mit dem μ CT validiert hat. Taylor et al. [2010] haben einen Algorithmus entwickelt mit dem die Ausdehnung von kariösen Läsionen der Okklusalfächen im μ CT automatisch ermittelt werden sollte. Mit Hilfe des entwickelten Programms ließen sich Schmelz- und Dentinbereiche zuverlässig identifizieren. Bei der Kariesbestimmung traten aufgrund der nicht eindeutig verlaufenden Opazitätsgrenzen jedoch Schwierigkeiten auf. Zudem wurden die μ CT-Datensätze von verschiedenen Untersuchern ausgewertet und mit lichtmikroskopischen Schnittbildern vergleichend beurteilt. Als Ergebnis konnte

festgestellt werden, dass mit dem μ CT die kariösen Läsionen in der Tendenz weniger tief eingeschätzt werden als unter dem Lichtmikroskop. Außerdem konnte eine Studie ausfindig gemacht werden, welche die Übereinstimmung des μ CTs und der konventionellen Lichtmikroskopie bei der Validierung von Kariesdiagnostikmethoden vergleichend untersucht hat. Dabei handelt es sich um die Studie von Mitropoulos et al. [2010], bei welcher 40 Approximalflächen auf das Vorliegen einer kariösen Läsion untersucht wurden. In dieser Untersuchung wurde jeder Approximalfläche ein ICDAS-Kriterium zugeordnet. Im Anschluss daran folgte die Validierung mit dem μ CT und dem Lichtmikroskop. Das Ergebnis der erwähnten Studie beinhaltete, dass sich das μ CT nicht für die Validierung von Kariesdiagnostikmethoden eignet, also genau das Gegenteil davon, was in der vorliegenden Arbeit festgestellt werden konnte. Diese unterschiedliche Schlussfolgerung von Mitropoulos et al. [2010] mag daran liegen, dass keine Okklusalfächen sondern Glattflächen untersucht wurden. Vor allem lässt es sich aber damit begründen, dass das Probenmaterial der Autorengruppe um Mitropoulos et al. [2010] nur oberflächliche Läsionen beinhaltete. Bei der lichtmikroskopischen Auswertung der untersuchten Flächen waren 16 gesund, 6 hatten eine Schmelzkaries und weitere 18 hatten eine Karies in der äußeren Dentinhälfte. Die Beobachtung, dass gerade die Detektion von Schmelzläsionen und teilweise auch Dentinläsionen nahe der Schmelz-Dentin-Grenze mit dem μ CT Schwierigkeiten bereiten kann, wurde auch in der vorliegenden Untersuchung gemacht (Abb. 23: Streuung der Punkte im Bereich der CE-Werte zwischen 0-1). Diese Problematik ist bei der Auswertung von konventionellen Röntgenbildern bekannt [Nytun et al. 1992, Ekstrand et al. 1997] und überrascht daher nicht. Auch die zum Teil auftretenden Probleme bei initialen Läsionen sind hier keineswegs so ausgeprägt wie von Mitropoulos et al. [2010] beschrieben. Bei der Beurteilung von fortgeschrittenen Dentinläsionen kamen wir in dieser Untersuchung sogar zu fast identischen Ergebnissen der beiden Validierungsansätze.

In bisherigen Studien zur Kariesdiagnostik wurde zur Validierung der Ergebnisse seit vielen Jahren die histologische Untersuchung des Probenmaterials mit dem Lichtmikroskop als „Goldstandard“ akzeptiert und im Großteil der hierzu veröffentlichten Studien angewandt (Tab. 4). Um die ermittelten Daten mit anderen Studien vergleichen zu können, diente die histologische Validierung mittels Stereomikroskop auch in dieser Untersuchung als „Goldstandard“. Wie oben

erwähnt ist die Aufbereitung des Probenmaterials für die konventionelle histologische Untersuchung relativ aufwändig und somit fehleranfällig. Die im Lichtmikroskop ermittelte Ausprägung der kariösen Läsionen ist den Tabellen 8 und 9 zu entnehmen.

Die Tabelle 10 zeigt, dass zwischen den beiden oben genannten Validierungsverfahren mit der semiquantitativen Bestimmung der Kariesprogression nach Marthaler [1966] eine sehr gute Übereinstimmung festgestellt werden konnte. Bei 90,2% der untersuchten Punkte war mit beiden Methoden dieselbe Kariesausdehnung festzustellen. Bei genauerer Betrachtung der Stellen mit einer fehlenden Übereinstimmung (9,8%) konnte keine Tendenz abgeleitet werden, ob die kariösen Läsionen mit einem der beiden Validierungsverfahren tiefer eingeschätzt wurden (Tab. 10). Bei Verwendung der histologischen Einteilungskriterien nach Ekstrand et al. [1997] für die Gegenüberstellung von mikrocomputertomografischer und lichtmikroskopischer Validierung war eine ebenso gute Übereinstimmung zu erkennen (Tab. 11). Wurden dem Vergleich der Validierungsmethoden die Mittelwerte des CE-Indexes für das jeweilige Kriterium nach Marthaler [1966] zu Grunde gelegt (Tab. 6 und 8), kann auch hier von nahezu identischen Ergebnissen der beiden Validierungsmethoden ausgegangen werden. Dies wird weiterhin durch den Korrelationskoeffizienten nach Pearson bestätigt ($r=0,96$). Damit kann an dieser Stelle geschlussfolgert werden, dass bei identischer Schnittführung sowohl das konventionelle histologische Vorgehen als auch das μ CT zu gleichen Ergebnissen führt.

5.3. Validierung der Kariesdiagnostik mit ICDAS

Die visuelle Kariesdetektion an Okklusalfächen erfährt im Moment eine breite Zustimmung. Das ICDAS hat sich hier besonders hervorgetan und es finden sich in der Literatur einige aktuelle Studien, welche für dieses System bezüglich der Validität sehr gute Ergebnisse nachweisen konnten (Tab. 28). Für die Kariesdetektion mit dem ICDAS wurden auch in der vorliegenden Arbeit sehr gute Ergebnisse erzielt. Mit der Validierungsmethode der konventionellen Lichtmikroskopie konnte eine SE von 86,5 und eine SP von 90,9 festgestellt werden. Der Az-Wert betrug 0,91 (Tab. 18). Für die Dentinkariesdetektion wurden

dieselben diagnostischen Güteparameter wie für die Kariesdetektion, einmal für die histologische Kariesklassifikation nach Marthaler [1966] und einmal für die nach Ekstrand et al. [1997], berechnet (Tab. 21 und 22). Insgesamt konnten auf dem D3-4 Niveau moderate bis gute Werte für die Kariesdiagnostik erzielt werden. Für die histologische Einteilung nach Marthaler [1966] konnten eine SE von 25,6 und eine SP von 97,4 festgestellt werden. Die Berechnung des Az-Werts ergab 0,78 (Tab. 21). Wurden für die Berechnung dieser Parameter die Einteilungskriterien nach Ekstrand et al. [1997] herangezogen, ergab sich eine SE von 43,1 sowie eine SP von 91,7 mit einem Az-Wert von 0,71 (Tab. 22).

Die angegebenen Werte für die diagnostische Güte beziehen sich auf eine Grenzwertziehung zwischen den ICDAS-Kriterien 0 und 1 für die Kariesdetektion und zwischen 2 und 3 für das Dentinkariesniveau. Die Werte für die Dentinkariesdetektion decken sich mit den Ergebnissen einer Literaturübersicht von Bader et al. [2001], wonach die klinische Kariesdiagnostik an Okklusalfächen eine hohe SP aber niedrige SE aufweist.

Alle in der Tabelle 28 aufgeführten Untersuchungen haben gemeinsam, dass die ICDAS-Kriterien für die visuelle Diagnostik kariöser Läsionen an Okklusalfächen genutzt und anschließend die Zahnproben lichtmikroskopisch validiert wurden. In der vorliegenden Untersuchung erreichten die SE und SP für die Kariesdetektion bei der Grenzwertziehung zwischen den ICDAS Kriterien 0 und 1 die höchste Summe (Tab. 18). Einige Autoren (Jablonski-Momeni et al. [2008, 2009b, 2010a], Braga et al. [2009]) verwandten dagegen zur Berechnung der Güteparameter für die Kariesdetektion (D0 vs. D1-D4) eine Grenzwertziehung zwischen den ICDAS-Kriterien 1 und 2.

Beim Vergleich der vorliegenden Arbeit mit den Untersuchungen von Jablonski-Momeni et al. [2008, 2009b, 2010a und 2010b], Braga et al. [2009] und Shoaib et al. [2009] ist festzustellen, dass generell auf dem D3-Niveau ein höherer Wert für die SP im Vergleich zur SE ermittelt wurde. Somit stimmen die Ergebnisse in der Tendenz überein, jedoch lagen in allen Studien Unterschiede bezüglich der SE vor. In den Studien von Rodrigues et al. [2008] und Diniz et al. [2009b] war dagegen die SE höher als die SP. Alle Studien, die die histologische Kariesprogression mit zwei Einteilungsmethoden festgehalten haben, zeigen gemeinsam, dass bei der Verwendung der histologischen Kriterien nach Ekstrand et al. [1997] die SE höhere Werte erzielte, wobei die SP und der Az-Wert etwas

abfielen (im Gegensatz zu Marthaler [1966]). Diese Beobachtung deckt sich mit den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit. Bei allen Untersuchungen, außer in der von Shoaib et al. [2010] für das D3-Niveau, liegen die Az-Werte (meist deutlich) über 0,75, was nach Bühl und Zöfel [2000] einem akzeptablen Ergebnis gleichkommt.

Da das μ CT zur Validierung des ICDAS für die Okklusalkariesdiagnostik noch nicht eingesetzt wurde, liegen hierzu keine vergleichbaren Daten vor.

Bei Betrachtung der diagnostischen Güteparameter, welche mit Hilfe der beiden Validierungsansätze ermittelt wurden (Tab. 17-22), sind keine wesentlichen Unterschiede festzustellen. Damit kann geschlussfolgert werden, dass das μ CT für die Validierung der Okklusalkariesdiagnostik dieselben Ergebnisse liefert wie die konventionelle Methode des Lichtmikroskops.

Werden die Tabellen 17 bis 22 betrachtet, so wird deutlich, dass die Verwendung verschiedener histologischer Kariesklassifikationsstandards zu unterschiedlichen Ergebnissen führt. Auch die Tabellen 12 bis 16 verdeutlichen diesen Aspekt. Definitionsgemäß beschränkt sich dies beim Vergleich der Kriterien nach Marthaler [1966] und denen nach Ekstrand et al. [1997] auf das Dentinkariesniveau. Bei der Validierung des ICDAS mit dem Lichtmikroskop und den histologischen Kriterien nach Marthaler [1966] konnte eine SE von 25,6 und eine SP von 97,4 ermittelt werden. Dagegen belief sich mit den histologischen Kriterien nach Ekstrand et al. [1997] die SE auf 43,1 und die SP auf 91,7 (Tab. 21 und 22). Die Schlussfolgerung an dieser Stelle lautet, dass die Nutzung abweichender Indizes zur Quantifizierung des kariösen Prozesses auch zu unterschiedlichen Ergebnissen bezüglich der diagnostischen Güte führt. Daher ist eine Vereinheitlichung anzustreben. Dies könnte mit der Etablierung allgemeingültiger Empfehlungen für Diagnostikstudien einhergehen. Idealerweise sollten als Probenmaterial nur Molaren Verwendung finden. Außerdem sind eine sorgfältige Probenaufbereitung, sowie eine umfangreiche Dokumentation anzustreben. Des Weiteren wäre die Verwendung einer einheitlichen histologischen Karieseinteilung wünschenswert. Zudem sollten bisher noch nicht genutzte Validierungsmethoden zunächst mit einem allgemein akzeptierten Vorgehen untersucht werden. Einige der in Tabelle 30 aufgeführten Autoren (Jablonski-Momeni et al. [2008a], Diniz et al. [2009], Shoaib et al. [2009]) haben ihr Probenmaterial sowohl mit den Kriterien nach Marthaler [1966] als auch mit

denen nach Ekstrand et al. [1997] bewertet. Dies ist bezüglich der Vergleichbarkeit mit anderen Studien zu begrüßen. Als Alternative zu diesem Vorgehen kann der von Kühnisch et al. [2010] eingeführte CE-Index gesehen werden, da dieser wie eingangs beschrieben, zu den meisten histologischen Einteilungskriterien kompatibel ist und quantitative Werte bietet.

Aus den Tabellen 19-22 geht hervor, dass die höchste Summe aus SP und SE für die Dentinkariesdetektion bei einer Grenzwertziehung zwischen den ICDAS-Kriterien 1 und 2 erreicht wurde. Die Problematik hierbei ist jedoch, dass daraus eine Überbehandlung resultieren würde, da nicht jede Dentinläsion nahe der Schmelz-Dentin-Grenze sofort invasiv therapiert werden muss [Ricketts et al. 1995b und 2002]. Daher wird von den Autoren des ICDAS eine invasive Behandlung erst ab dem Kriterium 3 empfohlen [ICDAS 2008]. Hier ist auf jeden Fall weiterer Forschungsbedarf geboten, um einen eindeutigen und allgemeinen Grenzwert für eine invasive Behandlung festzulegen. Allerdings gestaltet sich dies schwierig, da klinisch nicht nur die Ausdehnung der kariösen Läsion alleine zu beachten ist, sondern weitere Einflussfaktoren eine Rolle spielen, wie z.B. die Aktivität der Karies [Braga et al. 2009].

Tabelle 28: Übersicht vorhandener Studien zur visuellen Okklusalkariesdiagnostik mit den ICDAS-Kriterien. Alle Untersuchungen nutzten die histologische Probenaufbereitung und lichtmikroskopische Validierung

Studie	Proben-anzahl	Histologie	Grenz-werte	SE (%)	SP (%)	Az-Wert
Rodrigues et al. [2008b]	119 Stellen	D3(Marthaler)	k.A.	73	65	0,75
		D1	1/2	59-73 ¹	74-91 ¹	0,73-0,86 ¹
Jablonski-Momeni et al. [2008]	93 Stellen	D3(Marthaler)	2/3	48-83 ¹	82-90 ¹	0,87-0,88 ¹
		D3(Ekstrand)	2/3	64-88 ¹	68-90 ¹	0,84-0,86 ¹
Braga et al. [2009]	98 Stellen Milch-molaren	D1	1/2	92	79	0,90
		D3(Marthaler)	3/4	78	94	0,89
Diniz et al. [2009b]	163 Stellen	D3(Marthaler)	2/3	75	62	0,73
		D3(Ekstrand)	2/3	100	69	0,54
		D1	0/1	75,4	90,0	--
Shoaib et al. [2009]	107 Milch-molaren	D3(Marthaler)	2/3	63,1	92,8	--
		D3(Ekstrand)	2/3	77,9	87,0	--
Jablonski-Momeni et al. [2009b]	146 Stellen	D1	1/2	57-71 ¹	73-83 ¹	0,72-0,81 ¹
		D3(Marthaler ²)	2/3	54-75 ¹	80-88 ¹	0,83-0,86 ¹
Jablonski-Momeni et al. [2010a]	50 Zähne	D1	1/2	95	85	0,94
		D3(Marthaler ²)	2/3	81	100	0,97
Jablonski-Momeni et al. [2010b]	166 Stellen	D1	0/1	91	54	0,82
		D3(Marthaler ²)	2/3	70	91	0,88
Neuhaus et al. [2010]	37 Zähne Milch-molaren	D1	k.A.	82	65	0,74
		D3 (Marthaler)	k.A.	83	85	0,84

¹behandlerabhängig/²vom Autor ist Downer [1975] bzw. Lussi et al. [1999] angegeben (entspricht Marthaler [1966])

5.4. Histologische Merkmale und Kariesaktivität

1922 beschrieb Furrer verschiedene Zonen der Dentinkaries, die im Lichtmikroskop beobachtet werden können (Tab. 1). Heute wird in vielen Lehrbüchern die Darstellung der unterschiedlichen histologischen Zonen nach Schröder [1991] übernommen (Tab. 1). Die von ihm beschriebenen Zonen konnten auch während dieser Untersuchung vorgefunden werden. Dabei präsentierten sich die Zone der Demineralisation in Form von gelb bis braun verfärbtem Dentin, die Zone der Nekrose als sehr dunkel verfärbter Bereich an der Läsionsoberfläche und die Zone der Transparenz am Übergang zum gesunden Dentin am auffälligsten. Die beiden letztgenannten konnten nicht bei allen kariösen Läsionen beobachtet werden (Tab. 25).

Bei der Untersuchung mit Hilfe des μ CTs konnte lediglich eine Abstufung von Grauwerten bis hin zu einem Schwarzwert bestimmt werden. Es ist davon auszugehen, dass der häufig an der Oberfläche einer Dentinläsion vorliegende Schwarzwert der im Lichtmikroskop anzutreffenden Zone der Nekrose entspricht. Hierbei handelt es sich um vollständig entkalktes und denaturiertes Dentin. Diese Annahme wird durch den Vergleich der Mittelwerte des CE-Indexes für die im Lichtmikroskop und die im μ CT festgestellte Zone der Nekrose gestützt (Tab. 24 und 26).

Die Grauwertveränderungen die im μ CT vorgefunden werden konnten (Tab. 24) entsprachen den im Lichtmikroskop festgestellten Dentinverfärbungen (Tab. 26). Diese beiden Bereiche reflektieren die Zone der Demineralisation und sind mit dem Progressionsgrad der kariösen Läsion gleichzusetzen.

Eine Zone der Transluzenz konnte nur im Lichtmikroskop nachgewiesen werden. Diese Erscheinung wird als Abwehrreaktion der Pulpa gegenüber der kariösen Läsion verstanden [Bjørndal 2008, Zavgorodniy et al. 2008]. Sie ist deshalb vor allem bei langsam voranschreitenden kariösen Läsionen zu erwarten. Mit Blick auf die Tabelle 27 kann festgestellt werden, dass bei 132 (56,5%) von 234 untersuchten Stellen eine transluzente Zone diagnostiziert werden konnte. Diese hohe Anzahl an langsam voranschreitenden Läsionen ist damit zu erklären, dass beim Großteil der Zahnproben nicht kavitierte und somit meist langsam voranschreitende Läsionen vorlagen.

Weiterhin gilt zukünftig zu klären, ob Veränderungen, welche sich im histologischen Schnittpräparat darstellten, mit der Aktivität der kariösen Läsion korrelierten. So wäre es denkbar, dass eine Zone der Nekrose mit einer aktiven Läsion vergesellschaftet sein könnte. Auch das Fehlen einer Zone der Transparenz könnte auf eine aktive, schnell voranschreitende Karies hindeuten. Zu diesem Gedanken ist auf jeden Fall weiterer Forschungsbedarf geboten, da eine Therapieentscheidung nicht nur von der Läsionstiefe, sondern auch von deren Aktivität abhängen sollte [Ekstrand et al. 2009].

6. Zusammenfassung

Um die Güte einer Diagnostikmethode zu überprüfen ist es erforderlich, diese zu validieren. In der Vergangenheit wurden Methoden zur Okklusalkariesdiagnostik mit Hilfe konventioneller histologischer Methoden kontrolliert. Dies umfasste in der Regel die einzelnen Arbeitsschritte der Probenaufbereitung, der Visualisierung des kariösen Prozesses und der abschließenden Quantifizierung der Kariesextension. Aufgrund der aufeinander folgenden Arbeitsschritte und der erforderlichen Zerstörung der Zahnprobe während der Aufbereitung wäre es wünschenswert ein weniger sensitives und non-destruktives Verfahren zu verwenden. In der vorliegenden, vergleichenden Arbeit wurde erstmals die Mikrocomputertomografie (μ CT) neben der konventionellen histologischen Untersuchung zur Validierung der Okklusalkariesdetektion und –diagnostik mit dem International Caries Detection and Assessment System eingesetzt. Bei der Untersuchung mit dem μ CT handelt es sich um ein non-destruktives Validierungsverfahren. Im Rahmen der vorliegenden in vitro Untersuchung wurden die Okklusalfächen von 196 dritten Molaren auf das Vorliegen einer kariösen Läsion überprüft, wobei jeder untersuchten Stelle das entsprechende ICDAS-Kriterium zugeordnet wurde.

Die in der vorliegenden Arbeit dokumentierten Ergebnisse können wie folgt zusammengefasst werden:

1. Bei der Erfassung der Kariesausdehnung mit dem μ CT und der konventionellen Methode kann von identischen Ergebnissen ausgegangen werden.
2. Die Validität des International Caries Detection and Assessment Systems (ICDAS) ergab für das Kariesdetektionsniveau (D0 vs. D1-D4) sehr gute Werte. So betrugen die Spezifität und die Sensitivität jeweils etwa 90%. Auf dem Dentinkariesniveau (D0-D2 vs. D3-D4) konnten für die Spezifität ebenfalls sehr gute Werte ermittelt werden: 97% bei Verwendung der histologischen Kriterien nach Marthaler [1966] bzw. 92% bei Verwendung der histologischen Kriterien nach Ekstrand et al. [1997]. Die Sensitivität dagegen betrug auf diesem Niveau nur 26% bei Verwendung der histologischen Kriterien nach Marthaler [1966] bzw. 46% bei Verwendung der histologischen Kriterien nach Ekstrand et al. [1997]). Die geringe Sensitivität auf dem Dentinkariesniveau lässt sich vorwiegend damit

begründen, dass viele Läsionen eine geringfügige Dentinbeteiligung nahe der Schmelz-Dentin-Grenze aufwiesen und daher fehlklassifiziert wurden.

3. Je nach Auswahl des Indexes zur histologischen Erfassung der Kariesprogression (Marthaler [1966], Ekstrand et al. [1997]) wurden unterschiedliche Güteparameter für die genutzte Diagnostikmethode ermittelt. Daher sollten zukünftige Untersuchungen Ergebnisse für beide Indizes inkludieren, um die Vergleichbarkeit von Diagnostikstudien untereinander zu garantieren. Zur Dentinkariesdiagnostik sollten die Kriterien nach Marthaler [1966] genutzt werden, da diese im Gegensatz zu denen von Ekstrand et al. [1997] Schmelz- von Dentinläsionen eindeutig voneinander trennen. Darüber hinaus ist zu diskutieren, ob ein weiterer diagnostischer Schwellenwert eingeführt werden sollte, um den Aspekt der therapeutischen Intervention besser zu berücksichtigen.
4. Bei der Nutzung des CE-Indexes kann als wesentlicher Vorteil die präzise, quantitative Einschätzung der Kariesprogression hervorgehoben werden. Zudem ist die Möglichkeit der Berechnung der Mittelwerte für jedes diagnostische Kriterium und die Kompatibilität zu allen histologischen Einteilungskriterien zur Erfassung der Kariesprogression zu nennen. Die Zuordnung der CE-Werte zu den einzelnen ICDAS-Kriterien zeigte für erste sichtbare Zeichen (Score 1) eine Schmelzbeteiligung und eine geringfügige Dentinbeteiligung. Mit Zunahme der ICDAS-Werte nahm auch die Dentinbeteiligung kontinuierlich zu.
5. Nach den in dieser Arbeit vorliegenden Ergebnissen ist davon auszugehen, dass die im Lichtmikroskop feststellbare Zone der Nekrose dem im μ CT auftretenden Schwarzwert entspricht. Daher kann dieses Merkmal mit beiden Untersuchungstechniken dokumentiert werden.
6. Bei der Validierung mit dem μ CT konnte nur ein demineralisierter Bereich und eine Zone der Nekrose dargestellt werden. Für alle anderen Zonen die im Lichtmikroskop nachgewiesen werden konnten, waren im μ CT keine Anzeichen zu erkennen.
7. Die einzelnen histologischen Zonen konnten nicht an allen Proben erfasst werden. Dies lässt sich mit der unterschiedlichen Läsionsaktivität begründen. Im Umkehrschluss bleibt zukünftig die Frage zu beantworten,

inwieweit die Läsionsaktivität durch die Präsenz einzelner histologischer Merkmale überprüft werden kann.

7. Literaturverzeichnis

1. Alwas-Danowska HM, Plasschaert AJM, Suliborski S, Verdonschot EH: Reliability and validity issues of laser fluorescence measurements in occlusal caries diagnosis. *J Dent* 30(2002)129-134.
2. Ando M, Eggertsson H, Isaacs R, Analoui M, Stookey GK: Comparative studies of several methods for the early detection of fissure lesions. In: Stookey GK (ed): *Early Detection of Dental Caries II: Proceedings of the 4th Annual Indiana Conference*. Indianapolis: Indiana University, School of Dentistry (2000)279-299.
3. Angmar B, Carlström D, Glas JE: The mineralization of normal human enamel. *J Ultrastruct Res* 8(1963)12-23.
4. Angnes V, Angnes G, Batistella M, Grande RHM, Loguercio AD, Reis A: Clinical effectiveness of laser fluorescence, visual inspection and radiography in the detection of occlusal caries. *Caries Res* 39(2005)490-495.
5. Ashley PF, Blinkhorn AS, Davies RM: Occlusal caries diagnosis: an in vitro histological study of Electronic Caries Monitor (ECM) and other methods. *J Dent* 26(1998)83-88.
6. Bader JD, Shugars AD, Bonito AJ: Systematic Reviews of Selected Dental Caries Diagnostic and Management Methods. *J Public Health Dent* 62(2002)201-13.
7. Bjørndal L, Thylstrup A: A structural analysis of approximal enamel caries lesions and subjacent dentin reactions. *Eur J Oral Sci* 103(1995)25-31.
Bjørndal L, Mjör IA: Pulp-dentin biology in restorative dentistry. Part 4: Dental caries--characteristics of lesions and pulpal reactions. *Quintessence Int* 32(2001)717-36.
8. Bjørndal L: The caries process and its effect on the pulp: the science is changing and so is our understanding. *J Endod* 34(2008)S2-5.
9. Black GV: *Konservative Zahnheilkunde Bd 1: Pathologie der harten Zahngewebe*. Meusser Berlin(1914).
10. Braga MM, Mendes FM, Martignon S, Ricketts DNJ, Ekstrand KR: In vitro Comparison of Nyvad's System and ICDAS-II with Lesion Activity Assessment for Evaluation of Severity and Activity of Occlusal Caries Lesions in Primary Teeth. *Caries Res* 43(2009)405-412.
11. Burin C, Burin C, Loguercio AD, Grande RH, Reis A: Occlusal caries detection: a comparison of a laser fluorescence system and conventional methods. *Pediatr Dent* 27(2005)307-312.

12. Carvalho J, Ekstrand K, Thylstrup A: Dental plaque and caries on occlusal surfaces of first permanent molars in relation to stage of eruption. *J Dent Res* 68(1989)773-779.
13. de Carvalho FG, de Fucio SB, Sinhoreti MA, Correr-Sobrinho L, Puppini-Rontani RM: Confocal laser scanning microscopic analysis of the depth of dentin caries-like lesions in primary and permanent teeth. *Braz Dent J* 19(2008)139-44.
14. ten Cate BJM, Lagerweij MD, Wefel JS, Angmar-Månsson B, Hall AF, Ferreira-Zandoná AG, Stookey GK, Faller RV. In vitro validation studies of quantitative light-induced fluorescence. In: Stookey GK (ed): Early detection of dental caries II: Proceedings of the 4th annual Indiana Conference. Indianapolis: Indiana University School of Dentistry(2000)231-250.
15. Chappard C, Marchadier A, Benhamou L: Interindividual and intraspecimen variability of 3-D bone microarchitectural parameters in iliac crest biopsies imaged by conventional micro computed tomography. *J Bone Miner Metab* 26(2008)506–513.
16. Chesters RK, Pitts NB, Matulienė G, Kvedariene A, Huntington E, Bendinskaite R, Balciuniene I, Matheson JR, Nicholson A, Gendvilyte A, Sabalaite R, Ramanauskiene J, Savage D, Mileriene J: An abbreviated caries clinical trial design validated over 24 months. *J Dent Res* 81(2002)637-640.
17. Cortes DF, Ekstrand KR, Elias-Boneta AR, Ellwood RP: An in vitro comparison of the ability of fibre-optic transillumination, visual inspection and radiographs to detect occlusal caries and evaluate lesion depth. *Caries Res* 34(2000)443-447.
18. Cortes DF, Ellwood RP, Ekstrand KR: An in vivo comparison of a combined FOTI/Visual examination of occlusal caries with other diagnostic methods and the effect of stain on their diagnostic performance. *Caries Res* 37(2003)8-16.
19. Costa AM, Yamaguti PM, De Paula LM, Bezerra AC: In vitro study of laser diode 655 nm diagnosis of occlusal caries. *ASDC J Dent Child* 69(2002)249-253.
20. Diniz MB, Rodrigues JA, Neuhaus KW, Cordeiro RC, Lussi A: Influence of examiner's clinical experience on the reproducibility and accuracy of radiographic examination in detecting occlusal caries. *Clin Oral Investig* (2009a) ahead of print.
21. Diniz MB, Rodrigues JA, Hug I, Cordeiro RCL, Lussi A: Reproducibility and accuracy of the ICDAS-II for occlusal caries detection. *Dent Oral Epidemiol.* 37(2009b)399-404.

22. Dowker SE, Elliott JC, Davis GR, Wassif HS: Longitudinal study of the three-dimensional development of subsurface enamel lesions during in vitro demineralisation. *Caries Res* 37(2003)237-45.
23. Downer MC: Concurrent validity of an epidemiological diagnostic system for caries with the histological appearance of extracted teeth as validating criterion. *Caries Res* 9(1975)231–246.
24. Ekstrand KR, Ricketts DNJ, Kidd EAM: Reproducibility and accuracy of three methods for assessment of demineralization depth of the occlusal surface: an in vitro examination. *Caries Res* 31(1997)224-231.
25. Ekstrand KR, Ricketts DNJ, Kidd EAM: Do occlusal carious lesions spread laterally at the enamel – dentin junction? *Clin Oral Invest* 2(1998a)15–20.
26. Ekstrand KR, Ricketts DNJ, Kidd EAM, Qvist V, Schou S: Detection, diagnosis, monitoring and logical treatment of occlusal caries in relation to lesion activity and severity: an in vivo examination with histological validation. *Caries Res* 32(1998b)247-254.
27. Ekstrand KR, Ricketts DNJ, Kidd EAM: Occlusal caries: pathology, diagnosis and logical management. *Dent Update* 28(2001)380-387.
28. Ekstrand KR: Improving clinical visual detection - potential for caries clinical trials. *J Dent Res* 83 Spec IssueC(2004)C67-C71.
29. Ekstrand KR, Ricketts DNJ, Longbottom C, Pitts NB: Visual and tactile assessment of arrested initial enamel carious lesions: an in vivo pilot study. *Caries Res* 39(2005)173-177.
30. Ekstrand KR, Zerob DT, Martignond S, Pitts NB: Lesion Activity Assessment. *Monogr Oral Sci* 21(2009)63–90.
31. El-Housseiny AA, Jamjoum H: Evaluation of visual, explorer, and a laser device for detection of early occlusal caries. *J Clin Pediatr Dent* 26(2001)41-48.
32. Espelid I, Tveit AB, Fjelltveit A: Variations among dentists in radiographic detection of occlusal caries. *Caries Res* 28(1994)169-175.
33. Feahterstone J: The science and practice of caries. *J Am Dent Assoc* 131(2000)887-899.
34. von der Fehr F, Loe H, Theilade E: Experimental caries in man. *Caries Res* 4(1970)131-148.
35. Fennis-le YL, Verdonschot EH, Burgersdijk RC, König KG, van't Hof MA: Effect of 6-monthly applications of chlorhexidine varnish on incidence of occlusal caries in permanent molars: a 3-year study. *J Dent* 26(1998)233-238.
36. Ferreira-Zandoná AG, Analoui M, Beiswanger BB, Isaacs RL, Kafrawy AH, Eckert GJ, Stookey GK: An in vitro comparison between laser fluorescence

- and visual examination for detection of demineralization in occlusal pits and fissures. *Caries Res* 32(1998)210-218.
37. Fung L, Smales R, Ngo H, Moun G: Diagnostic comparison of three groups of examiners using visual and laser fluorescence methods to detect occlusal caries in vitro. *Aust Dent J* 49(2004)67-71.
 38. Furrer B: Die Verkalkungszonen bei der Dentinkaries. *Schweiz Monatsschr Zahnmed* 32(1922)330-353.
 39. Fyffe HE, Deery CH, Nugent ZJ, Nuttall NM, Pitts NB: Effect of diagnostic threshold on the validity and reliability of epidemiological caries diagnosis using the Dundee Selectable Threshold Method for caries diagnosis (DSTM). *Community Dent Oral Epidemiol* 28(2000a)42-51.
 40. Fyffe HE, Deery CH, Nugent ZJ, Nuttall NM, Pitts NB: In vitro validity of the Dundee Selectable Threshold Method for caries diagnosis (DSTM). *Community Dent Oral Epidemiol* 28(2000b)52-58.
 41. Gekelman D, Ramamurthy R, Mirfarsi S, Paqué F, Peters O: Rotary nickel-titanium GT and ProTaper files for root canal shaping by novice operators: a radiographic and micro-computed tomography evaluation. *J Endod* 35(2009)1584-8.
 42. Glass RL (ed): The first international conference on the declining prevalence of dental caries. *J Dent Res* 61(1982)1301-1383.
 43. Gray GB, Paterson RC: Prediction of the extent of caries in pit and fissure lesions in a field trial in the west of Scotland. *Caries Res* 31(1997)329-335.
 44. Grossman ES, Cleaton-Jones PE, Cortes DF, Daya NP, Parak RB, Fatti LP, Hargreaves JA: Accurate diagnosis of occlusal carious lesions - a stereo microscope evaluation of clinical diagnosis. *SADJ* 57(2002)215-220.
 45. Hahn CL, Liewehr FR: Innate immune responses of the dental pulp to caries. *J Endod* 33(2007)643-51.
 46. Hannas AR, Pereira JC, Granjeiro JM, Tjäderhane L: The role of matrix metalloproteinases in the oral environment. *Acta Odontol Scand* 65(2007)1-13.
 47. Hausen H: Caries prediction - state of the art. *Community Dent Oral Epidemiol* 25(1997)87-96.
 48. Hellwig E, Klimek J, Attin TH: Einführung in die Zahnerhaltung. Elsevier GmbH, München (2007).
 49. Hintze H, Wenzel A, Larsen MJ: Stereomicroscopy, film radiography, microradiography and naked-eye inspection of tooth sections as validation for occlusal caries diagnosis. *Caries Res* 29(1995)359-63.

50. Hintze H, Wenzel A: Influence of the validation method on diagnostic accuracy for caries: A comparison of six digital and two conventional radiographic systems. *Dentomaxillofac Radiol* 31(2002)44–49.
51. Hintze H, Wenzel A: Diagnostic Outcome of Methods Frequently Used for Caries Validation. A Comparison of Clinical Examination, Radiography and Histology following Hemisectioning and Serial Tooth Sectioning. *Caries Res.* 37(2003)115-24.
52. Huang TTY, Jones AS, He LH, Darendeliler MA, Swain MV: Characterisation of enamel white spot lesions using X-ray micro-tomography. *J Dent* 35(2007)737-43.
53. Huysmans MCDNJM, Longbottom C, Pitts NB: Electrical methods in occlusal caries diagnosis: An in vitro comparison with visual inspection and bite-wing radiography. *Caries Res* 32(1998)324-329.
54. Huysmans M, Longbottom C: The challenges of validating diagnostic methods and selecting appropriate gold standards. *J Dent Res* 83 (Spec Iss C 2004)C48-C52.
55. ICDAS Foundation 2008: www.icdasfoundation.dk/clinicalpractice.htm.
56. International Caries Detection and Assessment System (ICDAS) Coordinating Committee: Rationale and Evidence for the International Caries Detection and Assessment System (ICDAS II). <http://www.icdas.org> (Stand Oktober 2005a).
57. International Caries Detection and Assessment System (ICDAS) Coordinating Committee: Criteria Manual - International Caries Detection and Assessment System (ICDAS II). <http://www.icdas.org> (Stand Oktober 2005b).
58. Ismail AI: Visual and visuo-tactile detection of dental caries. *J Dent Res* 83 Spec IssueC(2004)C56-C66.
59. Jablonski-Momeni A, Stachniss V, Ricketts DN, Heinzl-Gutenbrunner M, Pieper K: Reproducibility and Accuracy of the ICDAS-II for Detection of Occlusal Caries in vitro. *Caries Res* 42(2008)79–87.
60. Jablonski-Momeni A, Ricketts DNJ, Stachniss V, Maschka R, Heinzl-Gutenbrunner M, Pieper K: Occlusal caries: Evaluation of direct microscopy versus digital imaging used for two histological classification systems. *J Dent* 37(2009a)204-211.
61. Jablonski-Momeni A, Ricketts DN, Heinzl-Gutenbrunner M, Stoll R, Stachniss V, Pieper K: Impact of Scoring Single or Multiple Occlusal Lesions on Estimates of Diagnostic Accuracy of the Visual ICDAS-II System. *Int J Dent* (2009b) epub ahead of print
62. Jablonski-Momeni A, Ricketts DNJ, Weber K, Ziomek O, Heinzl-Gutenbrunner M, Schipper HM, Stoll R, Pieper K: Effect of Different Time

Intervals between Examinations on the Reproducibility of ICDAS-II for Occlusal Caries. *Caries Res* 44(2010a)267-71.

63. Jablonski-Momeni A, Ricketts DNJ, Rolfsen S, Stoll R, Heinzl-Gutenbrunner M, Stachniss V, Pieper K: Performance of laser fluorescence at tooth surface and histological section. *Lasers Med Sci* (2010b) epub ahead of print.
64. Johnson MW, Taylor BR, Berman DS: The response of deciduous dentine to caries studied by correlated light and electron microscopy. *Caries Res* 3(1969)348-68.
65. de Josselin de Jong E, van der Linden AH, ten Bosch JJ: Longitudinal microradiography: a non-destructive automated quantitative method to follow mineral changes in mineralised tissue slices. *Phys Med Biol* 32(1987)1209-20.
66. Kay EJ, Watts A, Paterson RC, Blinkhorn AS: Preliminary investigation into the validity of dentists' decisions to restore occlusal surfaces of permanent teeth. *Community Dent Oral Epidemiol* 16(1988)91-4.
67. Kazakia GJ, Burghardt AJ, Cheung S, Majumdar S: Assessment of bone tissue mineralization by conventional x-ray microcomputed tomography: Comparison with synchrotron radiation microcomputed tomography and ash measurements. *Med Phys* 35(2008)3170-3179.
68. Keyes P: Recent advances in dental caries research. Bacteriological findings and biological implications. *Int Dent J* 12(1962) 443-448.
69. Ketley CE, Holt RD: Visual and radiographic diagnosis of occlusal caries in first permanent molars and in second primary molars. *Br Dent J* 174(1993)364-370.
70. König KG, Schmid P, Schmid R: An apparatus for frequency-controlled feeding of small rodents and its use in dental caries experiments. *Archs Oral Biol* 13(1968)13-26.
71. König K: *Karies und Kariesprophylaxe*. München, Wilhelm Goldmann Verlag GmbH (1971).
72. Koob A, Sandern E, Hassfeld S, Staehle HJ, Eickholz P: Effect of digital filtering on measurements of the depth of approximal caries under different exposure conditions. *Am J Dent* 17(2004)388–93.
73. Kordic A, Lussi A, Luder HU: Performance of visual inspection, electrical conductance and laser fluorescence in detecting occlusal caries in vitro. *Schweiz Monatsschr Zahnmed* 113(2003)852-859.
74. Kühnisch J, Heinrich-Weltzien R, Senkel H, Clasen AB, Stösser L: Dental health and caries topography in 8-yr-old German and immigrant children. *Eur J Paediatr Dent* 2(2001)191-196.

75. Kühnisch J, Senkel H, Heinrich-Weltzien R: Vergleichende Untersuchung zur Zahngesundheit von deutschen und ausländischen 8- bis 10-Jährigen des westfälischen Ennepe-Ruhr-Kreises. *Gesundheitswesen* 65(2003)96-101.
76. Kühnisch J, Ifland S, Tranæus S, Angmar-Mansson B, Hickel R: Establishing quantitative light-induced fluorescence cut-offs for the detection of occlusal dentine lesions. *Eur J Oral Sci* 114(2006)483–488.
77. Kühnisch J, Dietz W, Stösser L, Hickel R, Heinrich-Weltzien R: Effects of Dental Probing on Occlusal Surfaces – A Scanning Electron Microscopy Evaluation. *Caries Res* 41(2007a)43-48.
78. Kühnisch J, Goddon I, Senkel H, Monse-Schneider B, Oehme T, Hickel R, Heinrich-Weltzien R: Development of a universal visual scoring system (UniViSS). *Caries Res* 41(2007b)289.
79. Kühnisch J, Ifland S, Tranaeus S, Heinrich-Weltzien R: Comparison of visual inspection and different radiographic methods for dentin caries detection on occlusal surfaces. *Dentomaxillofac Radiol* 38(2009)452-7.
80. Kühnisch J, Bücher K, Henschel V, Albrecht A, Garcia-Godoy, F: Diagnostic performance of the universal visual scoring system (UniViSS) on occlusal surfaces. *Clin Oral Investig* (2010) ahead of print
81. Lazarchik DA, Firestone AR, Heaven TJ, Filler SJ, Lussi A: Radiographic evaluation of occlusal caries: effect of training and experience. *Caries Res* 29(1995)355-358.
82. Lee JK, Ha BH, Choi JH, Heo SM, Perinpanayagam H: Quantitative three-dimensional analysis of root canal curvature in maxillary first molars using micro-computed tomography. *J Endod* 32(2006)941-5.
83. Leverett H, Proskin H, Featherstone J, Adair S, Eisenberg A, Mundorff-Shrestha S, Shields C, Shaffer C, Billings R: Caries risk assessment in a longitudinal discrimination study. *J Dent Res* 72(1993)538-543.
84. Linderer J, Linderer JC: *Handbuch der Zahnheilkunde*. Berlin(1837).
85. Lussi A: Validity of diagnostic and treatment decisions of fissure caries. *Caries Res* 25(1991)296-303.
86. Lussi A: Comparison of different methods for the diagnosis of fissure caries without cavitation. *Caries Res* 27(1993)409-416.
87. Lussi A, Imwinkelried S, Pitts NB, Longbottom C, Reich E: Performance and reproducibility of a laser fluorescence system for detection of occlusal caries in vitro. *Caries Res* 33(1999)261-266.
88. Lussi A, Schaffner M: Diagnose und Therapie der Karies. *Schweiz Med Forum* 8(2002)166-170.

89. Lussi A, Hellwig E: Performance of a new laser fluorescence device for the detection of occlusal caries in vitro. *J Dent* 34(2006)467-471.
90. Mannocci F, Peru M, Sherriff M, Cook R, Pitt Ford TR: The isthmuses of the mesial root of mandibular molars: a micro-computed tomographic study. *Int Endod J* 38(2005)558-563.
91. Marthaler TM: A standardized system of recording dental conditions. *Helv Odontol Acta* 10(1966)1-18.
92. Marthaler TM: Changes in dental caries 1953-2003. *Caries Res* 38(2004)173-181.
93. Massler M: Pulpal reactions to dental caries. *Int Dent J* 17(1967)441-460.
94. Micheelis W, Schiffner U, Hoffmann T, Kerschbaum T, John MT: Ausgewählte Ergebnisse der Deutschen Mundgesundheitsstudie (DMS IV). *Deutsch Zahnärztl Z* 62(2007)218-240.
95. Miller WD: Die Mikroorganismen der Mundhöhle. Georg Thieme Verlag Leipzig(1889).
96. Mitropoulos P, Rahiotis C, Stamatakis H, Kakaboura A: Diagnostic performance of the visual caries classification system ICDASII versus radiography and micro-computed tomography for proximal caries detection: An in vitro study. *J Dent* (2010) in press
97. Moore J, Fitz-Walter P, Parashos P: A micro-computed tomographic evaluation of apical root canal preparation using three instrumentation techniques. *Int Endod J* 42(2009)1057-64.
98. Naphausen MT, Riemersma M, Verdonschot EH: Diagnosis of occlusal caries lesions using laser fluorescence measurements. *Nederlands Tijdschrift voor Tandheelkunde* 109(2002)3-7.
99. Neuhaus KW, Rodrigues JA, Hug I, Stich H, Lussi A: Performance of laser fluorescence devices, visual and radiographic examination for the detection of occlusal caries in primary molars. *Clin Oral Invest* (2010) [ahead of print]
100. Nyttun RB, Raadal M, Espelid I: Diagnosis of dentin involvement in occlusal caries based on visual and radiographic examination of the teeth. *Scand J Dent Res* 100(1992)144–148.
101. Nyvad B, Machiulskiene V, Baelum V: Reliability of a new caries diagnostic system differentiating between active and inactive caries lesions. *Caries Res* 33(1999)252-260.
102. Ogawa K, Yamashita Y, Ichijo T, Fusayama T: The ultrastructure and hardness of the transparent layer of human carious dentin. *J Dent Res* 62(1983)7-10.
103. Pashley DH: Mechanistic analysis of fluid Distribution across the pulpodentin complex. *Endod Dent Traumatol* 7(1992)207-211.

104. de Paula AB, Campos JA, Diniz MB, Hebling J, Rodrigues JA: In situ and in vitro comparison of laser fluorescence with visual inspection in detecting occlusal caries lesions. *Lasers Med Sci.* (2009)[ahead of print].
105. Pearce E, Larsen M, Coote G: Fluoride in enamel lining pits and fissures of the occlusal groove-fossa system in human molar teeth. *Caries Res* 33(1999)196-205.
106. Penning C, van Amerongen JP, Seef RE, ten Cate JM: Validity of probing for fissure caries diagnosis. *Caries Res* 26(1992)445-449.
107. Pereira AC, Verdonchot EH, Huysmans MCD: Caries detection methods: Can they aid decision making for invasive sealant treatment? *Caries Res* 35(2001)83-89.
108. Pereira AC, Eggertsson H, Martinez-Mier EA, Mialhe FL, Eckert GJ, Zero DT: Validity of caries detection on occlusal surfaces and treatment decisions based on results from multiple caries-detection methods. *Eur J Oral Sci* 117(2009)51-57.
109. Pieper K: Epidemiologische Begleituntersuchungen zur Gruppenprophylaxe 1995 - Gutachten. Bonn: Deutsche Arbeitsgemeinschaft für Jugendzahnpflege (DAJ), (1996).
110. Pieper K: Epidemiologische Begleituntersuchungen zur Gruppenprophylaxe 1997 - Gutachten. Bonn: Deutsche Arbeitsgemeinschaft für Jugendzahnpflege 1998.
111. Pieper K: Epidemiologische Begleituntersuchungen zur Gruppenprophylaxe 2000 - Gutachten. Bonn: Deutsche Arbeitsgemeinschaft für Jugendzahnpflege 2001.
112. Pieper K: Epidemiologische Begleituntersuchungen zur Gruppenprophylaxe 2004 - Gutachten. Bonn: Deutsche Arbeitsgemeinschaft für Jugendzahnpflege 2005.
113. Pitts NB: Modern Concepts of Caries Measurement. *J Dent Res* 83(2004a, Spec Iss C)C43-C47.
114. Pitts NB: "ICDAS" - an international system for caries detection and assessment being developed to facilitate caries epidemiology, research and appropriate clinical management. *Community Dent Health* 21(2004b)193-198.
115. Pitts NB, Stamm JW: International Consensus Workshop on Caries Clinical Trials (ICW-CCT)--final consensus statements: agreeing where the evidence leads. *J Dent Res* 83 Spec No C(2004)C125-8.
116. Postnov AA, Vinogradov AV, Van Dyck D, Saveliev SV, de Clerck NM: Quantitative analysis of bone mineral content by X-ray microtomography. *Physiol Meas* 24(2003)165–178.

117. Reis A, Zach VL Jr, de Lima AC, de Lima Navarro MF, Grande RH: Occlusal caries detection: a comparison of DIAGNOdent and two conventional diagnostic methods. *J Clin Dent* 15(2004)76-82.
118. Reis A, Mendes FM, Angnes V, Angnes G, Grande RH, Loguercio AD: Performance of methods of occlusal caries detection in permanent teeth under clinical and laboratory conditions. *J Dent* 34(2006)89-96.
119. Richards D: Outcomes, what outcomes? Editorial. *Evid Based Dent* 6(2005).
120. Ricketts DNJ, Kidd EAM, Smith BG, Wilson RF: Clinical and radiographic diagnosis of occlusal caries: a study in vitro. *J Oral Rehabil* 22(1995a)15-20.
121. Ricketts DN, Kidd EA, Beighton D: Operative and microbiological validation of visual, radiographic and electronic diagnosis of occlusal caries in non-cavitated teeth judged to be in need of operative care. *Br Dent J* 179(1995b)214-220.
122. Ricketts D, Kidd E, Weerheijm K, de Soet H: Hidden caries: what is it? Does it exist? Does it matter? *Int Dent J* 47(1997a)259-65.
123. Ricketts DN, Whaites EJ, Kidd EA, Brown JE, Wilson RF: An evaluation of the diagnostic yield from bitewing radiographs of small approximal and occlusal carious lesions in a low prevalence sample in vitro using different film types and speeds. *Br Dent J* 182(1997b)51-8.
124. Ricketts DNJ, Watson TF, Liepins PJ, Kidd EAM: A comparison of two histological validating techniques for occlusal caries. *J Dent* 26(1998)89-96.
125. Ricketts DNJ, Ekstrand KR, Kidd EAM, Larsen T: Relating visual and radiographic ranked scoring systems for occlusal caries detection to histological and microbiological evidence. *Operative Dent* 27(2002)231-237.
126. DNJ Ricketts, NB Pitts: Traditional Operative Treatment Options. *Monogr Oral Sci.* 21(2009)164-173.
127. Rodrigues JA, Hug I, Diniz MB, Lussi A: Performance of Fluorescence Methods, Radiographic Examination and ICDAS II on Occlusal Surfaces in vitro. *Caries Res* 42(2008)297-304.
128. Rodrigues JA, Diniz MB, Josgrilberg EB, Cordeiro RC: In vitro comparison of laser fluorescence performance with visual examination for detection of occlusal caries in permanent and primary molars. *Lasers Med Sci* 24(2009)501-6.
129. Rohr M, Makinson OF, Burrow MF: Pits and fissures: morphology. *ASDC J Dent Child* 58(1991) 97-103.
130. Schneiderman A, Elbaum M, Shultz T, Keem S, Greenebaum M, Driller J: Assessment of dental caries with Digital Imaging Fiber-Optic Transillumination (DIFOTI): in vitro study. *Caries Res* 31(1997)103-110.

131. Schroeder HE: Pathobiologie oraler Strukturen. Karger AG Basel(1997).
132. Schwass DR, Swain MV, Purton DG, Leichter JW: A system of calibrating microtomography for use in caries research. *Caries Res.* 43(2009)314-21.
133. Shi XQ, Welander U, Angmar-Månsson B: Occlusal caries detection with KaVo DIAGNOdent and radiography: an in vitro comparison. *Caries Res* 34(2000)151-158
134. Shoaib L, Deery C, Ricketts DNJ, Nugent ZJ: Validity and Reproducibility of ICDAS II in Primary Teeth. *Caries Res* 43(2009)442-448.
135. Silverstone LM, Hicks MJ: The structure and ultrastructure of the carious lesion in human dentin. *Gerodontology* 1(1985)185-93.
136. Souza-Zaroni WC, Ciccone JC, Souza-Gabriel AE, Ramos RP, Corona SAM, Palma-Dibb RG: Validity and Reproducibility of different combinations of methods for occlusal caries detection: An in vitro comparison. *Caries Res* 40(2006)194-201.
137. Stanley HR, Pereira JC, Spiegel E, Broom C, Schultz M: The detection and prevalence of reactive and physiologic sclerotic dentin, reparative dentin and dead tracts beneath various types of dental lesions according to tooth surface and age. *J Oral Pathol* 12(1983)257-289.
138. Swenson E, Hennesey B: Detection of occlusal carious lesions: An in vitro comparison of clinicians' diagnostic abilities at varying levels of experience. *Gen Dent* 57(2009)60-6.
139. Takahashi N, Nyvad B: Caries ecology revisited: microbial dynamics and the caries process. *Caries Res* 42(2008)409-18.
140. Taylor AM, Satterthwaite JD, Ellwood RP, Pretty IA: An automated assessment algorithm for micro-CT images of occlusal caries. *Surgeon* 8(2010)334-40.
141. Thomas RZ, Ruben JL, de Vries J, ten Bosch JJ, Huysmans MC: Transversal wavelength-independent microradiography, a method for monitoring caries lesions over time, validated with transversal microradiography. *Caries Res* 2006;40(4)281-91
142. Tjäderhane L, Larjava H, Sorsa T, Uitto VJ, Larmas M, Salo T: The Activation and Function of Host Matrix Metalloproteinases in Dentin Matrix Breakdown in Caries Lesions. *J Dent Res* 77(1998)1622-1629.
143. Tonioli MB, Bouschlicher MR, Hillis SL: Laser fluorescence detection of occlusal caries. *Am Dent J* 15(2002)268-273.
144. Topping GV, Pitts NB: Clinical visual caries detection. *Monogr Oral Sci* 21(2009)15-41.
145. Tveit AB, Espelid I, Fjelltveit A: Clinical diagnosis of occlusal dentin caries. *Caries Res* 28(1994)368-372.

146. Verdonschot EH, Wenzel A, Truin GJ, König KG: Performance of electrical resistance measurements adjunct to visual inspection in the early diagnosis of occlusal caries. *J Dent* 21(1993)332-327.
147. Wefel JS, Heilman JR, Jordan TH: Comparisons of in vitro root caries models. *Caries Res* 29(1995)204-9.
148. Wenzel A, Fejerskov O, Kidd EAM, Joyston-Bechal S, Groeneveld A: Depth of occlusal caries assessed clinically, by conventional film radiographs, and by digitized, processed radiographs. *Caries Res* 24(1990)327-333.
149. Wenzel A, Hintze H, Mikkelsen L, Mouyen F: Radiographic detection of occlusal caries in noncavitated teeth. A comparison of conventional film radiographs, digitized film radiographs, and RadioVisioGraphy. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 72(1991)621-626.
150. Wenzel A, Fejerskov O: Validity of diagnosis of questionable caries lesions in occlusal surfaces of extracted third molars. *Caries Res* 26(1992)188-194.
151. Wenzel A, Verdonschot EH, Truin GJ, König KG: Accuracy of visual inspection, fiber-optic transillumination, and various radiographic image modalities for the detection of occlusal caries in extracted non-cavitated teeth. *J Dent Res* 71(1992)1934-1937.
152. Wenzel A, Verdonschot EH, Truin GJ, König KG: Impact of the validator and the validation method on the outcome of occlusal caries diagnosis. *Caries Res* 28(1994)373-7.
153. Wenzel A: Bitewing and digital bitewing radiography for detection of caries lesions. *J Dent Res* 83 (Spec Iss C 2004)C72-C75.
154. Wong FS, Willmott NS, Davis GR: Dentinal carious lesion in three dimensions. *Int J Paediatr Dent* 16(2006)419-23.
155. Yanagisawa T, Miake YJ: High-resolution electron microscopy of enamel-crystal demineralization and remineralization in carious lesions. *J Electron Microsc* 52(2003) 605-13.
156. Yassin OM: In vitro studies of the effect of a dental explorer on the formation of an artificial carious lesion. *J Dent Child* 62(1995)111-117.
157. Young SM, Lee JT, Hodges RJ, Chang TL, Elashoff DA, White SC: A comparative study of high-resolution conebeam computed tomography and charge-coupled device sensors for detecting caries. *Dentomaxillofac Radiol* 38(2009)445–51.
158. Zadik Y, Bechor R: Hidden occlusal caries: challenge for the dentist. *N Y State Dent J*. 74(2008)46-50.
159. Zavgorodniy AV, Rohanizadeh R, Swain MV: Ultrastructure of dentine carious lesions. *Arch Oral Biol* 53(2008)124-32.

8. Danksagung

Die Durchführung dieser Studie wurde von Mitteln der Deutschen Gesellschaft für Zahnerhaltung unterstützt (DGZ-GABA-Wissenschaftsfonds, AZ: DGZ-GABA-WF/Bücher 2010-1).

Ich danke besonders Herrn Priv.-Doz. Dr. med. dent. Jan Kühnisch für die Überlassung dieses interessanten Themas sowie die fachliche und geduldige Unterstützung in allen Phasen dieser Dissertation.

Bei Herrn Prof. Dr. med. dent. Karl-Heinz Kunzelmann möchte ich mich für die Einweisung in das wissenschaftliche Arbeiten im Labor und seine stets sehr kompetente Beantwortung meiner Fragen bedanken.

Zudem gilt mein Dank Herrn Prof. Dr. med. dent. Reinhard Hickel, der es mir ermöglichte, diese Untersuchung an der Poliklinik für Zahnerhaltung und Parodontologie der Ludwig-Maximilians-Universität München durchzuführen.

Weiterhin bedanke ich mich bei meinem Kommilitonen und Freund Herrn Matthias Galler für die kompetente themenübergreifende Zusammenarbeit während dieser Dissertation.

Abschließend möchte ich mich für die immerwährende Unterstützung meiner Familie bedanken, ohne die diese Arbeit nicht entstanden wäre.